

THÈSES

présentées à la

Faculté des Sciences de l'Université de Nancy

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

Mention Sciences

par

M. ROZENFELD

INGÉNIEUR DE L'INSTITUT AGRICOLE DE NANCY

1^{re} THÈSE :

**Contribution à l'étude du dosage
des matières albuminoïdes dans le lait de vache**

2^e THÈSE :

Sujets proposés par la Faculté

Soutenues le 12 Juillet 1934, devant la Commission d'examen

Président..... M. BOUIN

Examineurs.. } M. GAIN
 } M. JOLY

IMPRIMERIE CAMILLE ANDRE ET C^{ie}

**1, BOULEVARD JEAN-JAURÈS, 1
NANCY**

1934

THÈSES

présentées à la

Faculté des Sciences de l'Université de Nancy

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

Mention Sciences

par

M. ROZENFELD

INGÉNIEUR DE L'INSTITUT AGRICOLE DE NANCY

1^{re} THÈSE :

**Contribution à l'étude du dosage
des matières albuminoïdes dans le lait de vache**

2^e THÈSE :

Sujets proposés par la Faculté

Soutenues le Juillet 1934, devant la Commission d'examen

Président..... M. BOUIN

Examineurs.. } M. GAIN
 } M. JOLY

IMPRIMERIE CAMILLE ANDRE ET C^{ie}

1, BOULEVARD JEAN-JAURÈS, 1

NANCY

—
1934

Université de Nancy — Faculté des Sciences

Doyen : M. CORNUBERT

Assesseur : M. GAIN

Doyens honoraires : MM. PETIT, LEAU

Professeurs honoraires : MM. CARTAN, BLAISE,
THOULET, GUYOT, GUNTZ, GRIGNARD, E. DARMOIS,
GUTTON, PETIT, CROZE

Maîtres de conférences honoraires : MM. FÉRÉE, DELATOUR
RICHARD

Professeurs :

MM. CUÉNOT	Zoologie.
MAUDUIT	Electrotechnique.
GAIN	Botanique.
HUSSON	Mécanique rationnelle.
TRAVERS	Chimie industrielle.
VAVON	Chimie organique.
BOURION	Chimie physique et Electrochimie.
LEAU	Calcul différentiel et intégral.
N.	Analyse supérieure.
FALLOT	Géologie.
CORNUBERT	Chimie.
LONGCHAMBON	Minéralogie.
COURTOT	Chimie appliquée à la teinture.
MENTRÉ	Mécanique appliquée.
BOUIN	Zoologie appliquée.
DE MALLEMANN	Physique.
JOLY	Géologie de Lorraine.
CHEVALLIER	Physique.
LAFFITE	Chimie minérale.

Maîtres de conférences :

MM. RAYBAUD	Botanique.
DELSARTE	Mathématiques appliquées.
POIROT	Physique.
LAPORTE	Physique.

Chargé de cours :

M. DUBREUIL	Analyse supérieure.
-------------------	---------------------

Maître de conférences adjoint :

M. FRIEDEL	Botanique.
------------------	------------

Secrétaire : M. BERTRAND



A MES PARENTS

A MA SŒUR

A MES FRÈRES

A MES MAÎTRES



SOMMAIRE

	PAGES
CHAPITRE I ^{er} . — Les colloïdes et leurs propriétés	9
1° Notions préliminaires	10
2° La constitution des particules colloïdales	13
3° Etat des micelles en solution	16
4° La pression osmotique des colloïdes et leur coagulation	20
5° Les phénomènes d'adsorption dans les solutions colloïdales	27
6° Action réciproque des colloïdes	30
CHAPITRE II. — Les matières protéiques dans le lait	33
1° La caséine	34
2° La lactalbumine	42
3° La lactoglobuline	43
4° La coagulation du lait	44
CHAPITRE III. — Etude comparative et critique des diverses méthodes de dosage des matières protéiques dans le lait	49
A. — Méthodes volumétriques	50
1° Méthode de Kjeldahl	50
2° Méthode d'Orla Jensen	53
3° Méthode de Waterman	55
4° Méthode de Moir	56
5° Méthode de Dénigès	58
B. — Méthodes gravimétriques	61
1° Méthode de Roux	62
2° Méthode de Patein et Déval	64
3° Méthode de Trillat et Sauton	66
4° Méthode de Bordas et Fouplain	66
5° Etude du réactif silicotungstique	67
6° Méthode par l'acide chlorhydrique + réactif silicotungstique	69
C. — Méthode colorimétrique de Burniann	71
D. — Méthode électrique de Strohecker	74
CHAPITRE IV. — Conclusions générales	77

PREFACE

Depuis longtemps, nous nous sommes intéressé à la chimie des colloïdes, qui représente encore tant d'inconnu et d'inintelligible pour nous. Cependant, les colloïdes sont à la base même de la vie: approfondir leur étude, c'est arracher à la nature le secret qu'elle garde jalousement, comme un trésor précieux.

Mais pour réussir dans cette voie, il faut aller avec persévérance, pas à pas, étudiant les phénomènes colloïdaux dans différents cas particuliers. L'analyse doit précéder toujours la synthèse. Ce n'est qu'en se basant sur des faits observés dans diverses conditions où ils apparaissent, ce n'est qu'en multipliant des expériences, que l'on peut se former une conception juste de la marche générale des phénomènes. Et seulement de cette façon, une science, digne de ce nom, peut naître, ayant des bases solides, ne contredisant pas les faits, mais, par contre, les expliquant.

La science colloïdale a une histoire tout à fait différente: par des conceptions prématurées, qui avaient la prétention des lois, on a pendant un certain temps dévié son développement de la juste voie.

Nombreuses étaient les théories qui prétendaient expliquer les phénomènes colloïdaux dans toute leur complexité: on peut dire, en général, que plus une science est méconnue, plus elle est peuplée des « théories » et parfois même de ce qu'on peut appeler des « préjugés scientifiques ». D'autre part, la limitation des tâches

que se pose une science ne vient que de la sagesse, que de l'approfondissement de nos connaissances.

Maintenant, le terrain est déblayé: il faut seulement enrichir les connaissances acquises, et les vérifier à la lumière des faits.

Nous nous sommes occupé, dans le présent travail, de l'étude du dosage des matières albuminoïdes du lait; et c'est pourquoi nous avons jugé utile d'exposer brièvement les théories actuelles sur la chimie colloïdale, surtout dans les points qui ont une importance pour la connaissance du lait en général et pour le dosage de ses matières albuminoïdes en particulier. Avant d'aborder cette étude, nous tenons à remercier M. le Professeur BOUIN, Directeur de l'Institut de Zoologie appliquée à Nancy. Nous remercions le savant qui était notre guide éclairé dans ce travail, nous donnant des conseils, nous suggérant des idées. Nous remercions également l'homme, qui nous encourageait dans l'accomplissement de notre tâche et auquel nous sommes profondément reconnaissant de sa bonté.

Nous adressons aussi nos remerciements à M. le Professeur GAIN, Directeur de l'Institut Agricole de Nancy, et à M. le Professeur JOLY, qui nous ont donné le goût et l'intérêt des sciences naturelles.

Nous remercions également notre amie M^{lle} WEISSMAN, Docteur ès-sciences, chef des travaux pratiques à l'Ecole de Laiterie, qui nous a familiarisé avec la technique des analyses du lait et qui, au cours de notre travail, nous a aidé beaucoup par ses conseils amicaux et éclairés.

CHAPITRE PREMIER

LES COLLOIDES ET LEURS PROPRIETES

Au début du développement de la chimie des colloïdes, on croyait qu'elle différait essentiellement de celle des cristalloïdes. A l'époque où GRAHAM posait les premiers principes de cette nouvelle science, il semblait qu'on ne pourrait pas appliquer les lois de la chimie classique pour expliquer les phénomènes dans la chimie dite colloïdale. Peu à peu, le fossé créé assez artificiellement entre ces deux groupes de corps s'est comblé, les frontières s'effaçaient graduellement entre eux. Dans l'état actuel des sciences, on est parvenu à une certaine unité de vue, qui nous permet de voir de nombreux points et caractères communs reliant ces deux catégories de corps. Certes, il y a quelques différences profondes entre les colloïdes et les cristalloïdes, et ce n'est nullement la tâche de la science de les omettre et d'appliquer mécaniquement les mêmes principes aux uns et aux autres : ce serait agir contre l'esprit de la science, en déformant l'image objective des choses.

En un mot, en étudiant les colloïdes, nous ne devons jamais perdre de vue qu'ils existent dans un monde où tous les phénomènes sont reliés entre eux et, par consé-

quent, il faut se poser la tâche de rechercher ces liens qui nous mèneront aux questions déjà connues de la science ; d'autre part, on doit approfondir tous les caractères distinctifs qui leur sont propres.

NOTIONS PRELIMINAIRES

En 1861, GRAHAM montra qu'il y a trois différences essentielles entre les colloïdes et les cristalloïdes :

1° Les cristalloïdes forment des cristaux quand ils sont séparés de leur solution aqueuse, tandis que les colloïdes ont une tendance à se séparer sous forme de masses gélatineuses.

2° Ces deux groupes de corps diffèrent par leur vitesse de diffusion. Les cristalloïdes diffusent facilement, par contre les colloïdes se distinguent par une grande lenteur de diffusion et, en plus, ils ne sont pas dialysables.

3° Les derniers éléments existants dans les solutions des cristalloïdes sont des molécules ou des ions ; dans les solutions colloïdales, les derniers éléments existants seront des agrégats de molécules, dénommés micelles par le botaniste NAEGELLI. Disons tout de suite que ces énoncés n'ont rien d'absolu et ne peuvent nous donner que des renseignements assez vagues et parfois même imprécis.

Il y a beaucoup de corps, par exemple l'hémoglobine et l'albumine, appartenant au groupe des colloïdes, mais qui sont cependant cristallisables.

D'autre part, l'énoncé de GRAHAM, que les colloïdes sont des substances non dialysables, ne nous explique pas bien la question, étant donné qu'une substance déterminée peut traverser une membrane et être retenue par l'autre, ce qui conduirait à la classer à la fois comme colloïde et cristalloïde.

En ce qui concerne le troisième principe de GRAHAM' à savoir l'importance de la tendance des molécules des colloïdes à former des agrégats pour l'explication des propriétés des solutions colloïdales, J. LÖB soutient que les caractéristiques principales de l'état colloïdal peuvent être expliquées mathématiquement par les différences dans la diffusion des colloïdes et des cristalloïdes : la tendance des molécules de certaines protéines à former des agrégats ne joue qu'un rôle secondaire.

Comme nous voyons, les bases mêmes de la classification de GRAHAM étant trop schématiques, ont été soumises à une critique serrée, et la part de vérité qui s'y trouve a été augmentée de plus en plus par des recherches poursuivies jusqu'à nos jours. Ces recherches ont posé devant nous beaucoup de nouvelles questions.

La première question qui se pose, c'est de savoir si la faculté à prendre l'état colloïdal est liée à la constitution chimique d'une substance. Dans la liste des corps qui peuvent exister à l'état colloïdal, nous voyons depuis les corps très simples jusqu'aux corps organiques très complexes. Pour le moment, nous n'avons aucun critérium, qui pourrait nous permettre de reconnaître d'après la formule chimique d'un corps s'il est un cristalloïde ou un colloïde. Un grand nombre de corps, qui

ont presque les mêmes formules chimiques ne se trouvent pas dans le même état. L'amidon, dont la formule est $C^6H^{10}O^5$ est un colloïde; le glucose $C^6H^{12}O^6$, qui en dérive très facilement et qui a une formule voisine, est un cristalloïde. La gélatine $C^{16}H^{15}N^3O^4$ est un colloïde: elle s'intercale entre deux composés de formule $C^{10}H^{15}N^3O^5$ et $C^{10}H^{15}N^3O^3$ qui sont des cristalloïdes. De là, il résulte que la faculté d'un corps de prendre l'état colloïdal n'est nullement sous la dépendance de sa formule chimique. D'autre part, le fait qu'il y a beaucoup de substances qui peuvent exister, soit à l'état colloïdal, soit à l'état cristallin, semble plaider en faveur de cette thèse. Si nous pouvons transformer des cristalloïdes dans des conditions données en colloïdes, il est évident que la formule chimique du corps ne joue qu'un rôle secondaire, sauf peut-être dans la création de ces conditions.

Nous pouvons, à l'heure actuelle, obtenir des sols dans des liquides quelconques (par exemple alcools méthylique, éthylique, butylique: acétone, éther, benzine, toluène, huiles). Mais, bien entendu, un alcoosol par exemple n'aura pas précisément les mêmes propriétés qu'un hydrosol; car le benzène et l'eau sont deux solvants ayant des propriétés différentes. C'est, en particulier pour tout ce qui touche aux phénomènes d'électrolyse, que les propriétés du sol dépendront de la nature du dissolvant qu'il renferme et surtout de son pouvoir ionisant.

Une question se pose: l'état d'une substance varie-t-il avec la nature du solvant, ou bien cette substance reste-t-elle colloïde ou cristalloïde quel que soit le solvant qu'on emploie? Il y a beaucoup de faits qui démontrent

que certains sels peuvent être à l'état colloïdal dans un dissolvant et à l'état cristalloïdal dans un autre. Le chlorure de sodium, qui se trouve dissous à la manière ordinaire dans l'eau, forme une solution colloïdale dans le benzène. Cet exemple nous prouve, d'une part, qu'il y a une certaine continuité entre l'état colloïdal et l'état cristalloïde, et, d'autre part, que l'état dans lequel un corps dissous se trouve dépend aussi de la nature du solvant.

LA CONSTITUTION DES PARTICULES COLLOIDALES

La solution colloïdale comprend deux éléments essentiels : un milieu liquide (le solvant) et le corps dissous qui existe dans le sol à l'état de particules extrêmement petites de un millionième à un dix-millième de millimètre de diamètre. Ces particules, quoique très petites, sont cependant relativement grandes, si on les compare aux molécules ordinaires des cristalloïdes. C'est pourquoi on les considère comme un conglomerat de molécules, dénommé micelle. Le liquide dans lequel flottent les micelles sera le liquide intermicellaire. La micelle, qui joue un rôle analogue à la molécule d'un cristalloïde, a ses affinités chimiques et ses réactions spécifiques.

Les micelles colloïdales seront complètement insolubles dans l'eau. Cette insolubilité est beaucoup plus complète que celle des corps cristallisés connus en tant que les plus insolubles. Ce fait a une très grande importance dans la biologie : les tissus des êtres vivants doi-

vent être complètement insolubles pour résister à l'action de l'eau ou des liquides humoraux qui les baignent continuellement.

Il y a des micelles qui sont formées par condensation. On dit qu'il y a condensation lorsque deux ou plusieurs molécules s'unissent pour former une seule molécule plus grosse. Les protéines nous offrent un exemple de condensation. Les matières protéiques, comme on le sait, sont des acides animés composés d'une chaîne carbonée portant les deux groupements fonctionnels COOH et NH^2 . Par des réactions d'hydrolyse, on arrive à scinder cette chaîne en un certain nombre de chaînes plus courtes correspondant à des produits cristallisables. Beaucoup de ces produits sont des acides animés assez simples, comme le glyocolle (2 atomes carbone, leucine (C^6), acide glutamique (C^5). D'autres sont plus complexes et dérivent des premiers par la substitution d'autres groupes ou noyaux, tels que la tyrosine (en C^9), le tryptophane (en C^{11}). En dehors de ces acides animés simples, on trouve encore dans les produits d'hydrolyse des composés plus complexes contenant du soufre (cystine), des amines (glucosamine). Il résulte de là qu'une molécule albuminoïde est un système condensé, contenant des groupements différents. On a pu extraire par hydrolyse de la caséine du lait 16 groupements différents, dont les principaux sont l'acide aiménovalérique, la leucine, l'acide glutamique, etc. Toutes ces substances coexistent dans la molécule de la caséine, qui est un corps condensé ayant une chaîne très ramifiée, portant un grand nombre de chaînons latéraux différents les uns des autres. Ce mode complexe de condensation nous permet de com-

prendre l'extrême diversité des matières albuminoïdes, dont le nombre est pratiquement infini. Etant donné que la condensation se fait avec conservation des fonctions, il y en aura deux qui domineront nettement les autres par leur importance: ce sont les fonctions acide et basique des acides aminés, qui forment la partie essentielle de la molécule albuminoïde. C'est grâce à ces deux groupements fonctionnels qu'elle est amphotère. Les deux fonctions ont ici à peu près le même degré d'ionisation: par suite, la molécule albuminoïde se comportera dans un milieu acide comme une base et dans un milieu basique comme un acide.

Outre ce mode de formation des micelles, qui nous intéresse le plus, étant donné qu'il est relatif aux matières protéiques, nous aurons encore la formation par division et par adsorption.

La forme des micelles est très variable suivant les cas. Dans la plupart des cas, elles épousent la forme des grains sphériques, mais parfois elles nous apparaissent comme des bâtonnets allongés. NAEGELLI, voulant expliquer les propriétés optiques des solutions colloïdales, a émis l'hypothèse que la forme des micelles ne diffère pas sensiblement de celle de tout petits cristaux. Ajoutons que cette conception a été confirmée dans beaucoup de cas par l'examen des solutions colloïdales au moyen des rayons X.

ETAT DES MICELLES EN SOLUTION

Du point de vue de la conductibilité électrique, on peut diviser les solutions en deux catégories: les solutions ionisées et non ionisées. Dans les solutions non ionisées, ne conduisant pas l'électricité, la molécule du corps dissous reste entière et ne porte aucune charge électrique. Dans les solutions qui conduisent l'électricité, la molécule du corps dissous sera scindée en deux ions portant deux charges électriques de signe contraire, l'une étant positive, l'autre négative.

Le mouvement des particules colloïdales dans le champ électrique (l'électrophorèse) observé maintes fois par différents savants, est reconnu depuis longtemps comme un fait général. La vitesse du déplacement sera comprise entre $0,3-0,5$ par seconde dans un champ de 1 volt par centimètre.

Mais il faut faire remarquer que le mouvement qu'on observe est uniquement celui du granule: s'il existe, le mouvement des ions de la partie active ne peut pas être encore décelé par nos méthodes d'investigation, même si on utilise l'ultramicroscope. L'unique méthode qui peut nous donner des renseignements précieux à cet égard, c'est l'analyse chimique du liquide autour des électrodes. Cette méthode, qui exige beaucoup de temps, mais qui est assez exacte, n'est utilisée pour le moment que dans des cas très rares.

Pendant longtemps, on attribuait les propriétés conductrices des solutions colloïdales aux impuretés de ces solutions. On supposait que l'hydrosol absolument pur ne

devait avoir aucune conductibilité. Ce n'est que grâce aux progrès techniques et à l'emploi des filtres de colloïdion qu'on a pu se convaincre de la fausseté de cette supposition. On a mis en évidence la propriété conductrice des micelles par une expérience très simple: on mesure la conductibilité C d'un hydrosol, puis on extrait par filtration une certaine quantité de liquide intermicellaire dont on mesure la conductibilité C^1 . Si C est plus grand que C^1 , cela veut dire que la présence des micelles dans le liquide augmente sa conductibilité.

Mais cette conductibilité est très faible: cela ne doit pas nous surprendre, parce que la charge électrique d'un ion n'a aucun rapport avec sa masse. Un ion très grand ne transporte pas plus d'électricité qu'un ion beaucoup plus petit de charge égale.

La micelle est elle-même divisible, ionisée comme d'ailleurs la molécule d'un sel quelconque. Cependant, il y a une différence entre l'ionisation d'un électrolyte ordinaire et celle de la micelle. Tandis que dans les électrolytes ordinaires tous les ions sont de grosseur et de valence comparables, la micelle, au point de vue électrique, sera constituée par un ion grand et seul de son espèce, dont la charge sera beaucoup plus importante que celle des ions ordinaires qui lui font cortège.

On désigne cet ion unique sous le nom de granule. Les ions libres qui l'accompagnent sont les ions libres de la micelle de sa partie active. Dans le champ électrique, le granule se déplace dans un sens et les ions libres dans l'autre sens, parce qu'ils ont des signes contraires.

Bien entendu, le granule se compose des atomes. Il y a beaucoup de théories et d'hypothèses pour expliquer sa

structure. Le chimiste russe VON WEIMARN suppose que les granules ont une structure tout à fait régulière et, d'après lui, chaque granule est un petit cristal. A l'intérieur de ce petit cristal, les atomes sont disposés géométriquement en alignements réguliers, comme dans les cristaux microscopiques. Chaque alignement comprend seulement quelques atomes, et c'est pourquoi il n'est pas visible même à l'ultramicroscope. Quel sera le rôle de la charge électrique des particules colloïdales ?

Avant de passer à l'étude de cette question, nous devons donner quelques explications sur le phénomène qu'on appelle le mouvement brownien. Quand on examine à l'ultramicroscope une solution colloïdale, on peut facilement constater que les particules sont animées d'un mouvement très intense. Ce mouvement est tout à fait irrégulier et se compose des vibrations rapides. On peut supposer qu'il est produit par des chocs qu'exercent entre chaque particule en suspension les molécules du solvant, qui se trouve en état d'agitation permanente. Ainsi chaque particule est sans cesse bombardée en tous sens par les molécules qui l'entourent, et la résultante de ces chocs lui imprime une certaine impulsion d'où résulte le déplacement qu'on observe.

Le mouvement brownien dont sont animées les particules colloïdales augmente leur stabilité, empêchant les particules de se rassembler. Il est anéanti, si on ajoute à la solution colloïdale une quantité d'électrolytes suffisante pour en provoquer la coagulation. Selon EINSTEIN, le coefficient de la diffusion est égal à la moitié du nombre qui mesure l'activité du mouvement brownien.

Le savant français PERRIN a démontré qu'une parti-

cule colloïdale douée du mouvement brownien se comporte, du point de vue cinétique, comme une molécule d'un cristalloïde en solution. De cette façon, on établit encore une fois un lien fort entre les solutions ordinaires et les solutions colloïdales.

Nous voyons alors que le mouvement brownien intervient comme un facteur important dans la stabilité d'une solution colloïdale. Mais si les particules du colloïde n'avaient pas de charge électrique, étant soumises à des mouvements désordonnés, elles finiraient par se rencontrer et par s'agglomérer. La force répulsive qui s'exerce entre deux particules électrisées de même signe augmente au fur et à mesure que la distance entre elles diminue et ne leur permet pas de venir en contact.

Quand on introduit un électrolyte dans une solution colloïdale, les particules, par suite de leur électrisation d'un certain signe, fixent les ions dont le signe est opposé: leur charge diminue et enfin elle est annulée.

A ce moment, les particules colloïdales n'iront ni vers l'anode, ni vers la cathode: ils ont atteint ce qu'appelle HARDY leur point isoélectrique. La stabilité de la solution devient minime et les particules s'agglomèrent sous l'influence du mouvement brownien. Nous assistons au phénomène de la coagulation des colloïdes.

Pour finir avec l'étude des micelles, ajoutons que les expériences faites sur les colloïdes minéraux artificiels ont conduit à penser que la micelle comprend une grosse partie inerte et inactive et une petite partie active (impureté): on suppose que cette dernière est probablement située en majeure partie à la surface de la micelle.

La partie active n'est qu'une fraction parfois infime

de la micelle, mais c'est entre elle et les réactifs ajoutés que se passent les réactions. On explique même le phénomène de la coagulation par l'élimination de la partie active. Pour le provoquer, nous aurons besoin de très peu de réactif, étant donné que la partie active est très faible.

Il serait naturel de supposer qu'il y a identité entre la partie inerte et le granule, d'une part, et la partie active et les ions libres, d'autre part. Mais cette supposition ne correspond pas à la réalité. Le granule comprend la partie inerte de la micelle, plus un certain nombre d'ions qui proviennent de la partie active, le reste des ions de celle-ci formant les ions libres de la micelle plus ou moins répandus dans le liquide intermicellaire.

Il y a dans la nature une infinité de colloïdes qui ont la même partie active: ils ne diffèrent que par la nature et la proportion de leur partie active.

LA PRESSION OSMOTIQUE DES COLLOIDES ET LEUR COAGULATION

Si l'on dissout un cristalloïde dans l'eau, il va se produire dans le volume occupé par cette eau une pression qu'on appelle la pression osmotique. Pour les solutions ionisées, la pression osmotique est proportionnelle au nombre d'ions formés dans cette solution: dans les solutions qui ne conduisent pas l'électricité, cette pression sera proportionnelle au nombre de molécules contenues

dans un volume donné de cette solution, c'est-à-dire à la concentration moléculaire de la solution.

Quand on examine la pression osmotique des solutions colloïdales, on constate quelques faits qui les différencient des solutions cristalloïdales. Tout d'abord, le liquide intermicellaire, qui n'est pas de l'eau pure, est lui-même une solution qui a une pression osmotique propre. D'autre part, la pression osmotique des colloïdes n'est pas seulement variable pour des colloïdes différents, mais elle varie d'un échantillon à l'autre du même colloïde, quand les dimensions des micelles sont différentes, ce qui est d'ailleurs un cas général. Cette pression osmotique n'est pas du même ordre de grandeur que celle des cristalloïdes : elle est beaucoup plus petite, puisque les poids moléculaires sont plus grands. Ajoutons qu'elle n'est pas proportionnelle à la concentration.

Dans certains cas, on retrouve la proportionnalité approximative entre la pression osmotique et la concentration : ce sera le cas du rouge Congo.

Dans d'autres cas, on n'observe aucune proportionnalité et la pression osmotique diminue à mesure de l'augmentation de la concentration. C'est le cas de la dextrine. Puis, il peut arriver que la pression osmotique croît plus vite que la concentration. Nous pouvons donc dire que la loi de proportionnalité observée sur les solutions cristalloïdes ne s'applique pas aux colloïdes. Une autre loi qui relie la température à la pression osmotique des solutions cristallines n'est pas non plus applicable aux solutions colloïdales. Il arrive parfois des cas dans lesquels la pression osmotique diminue lorsque la température s'élève (albumine).

Pour tout hydrosol, il y a une pression limite qu'il ne faut pas dépasser, si on ne veut pas changer l'état colloïdal de la solution. Une fois cette pression osmotique maxima atteinte, l'hydrosol se transforme en hydrogel.

On peut faire une analogie entre la gélification d'un colloïde et la cristallisation. D'ailleurs, beaucoup de gels, comme les gels de savon et de la gélatine, sont cristallins.

La pression osmotique maxima donne alors la mesure de la stabilité d'un colloïde. D'une façon générale, la stabilité mesurée par la pression maxima est pour un même colloïde d'autant plus grande que les micelles sont plus fines. Ceci n'est d'ailleurs vrai que si l'on compare entre eux les hydrosols de la même substance, puisque d'un colloïde à l'autre les différences peuvent être très grandes, si l'ionisation de la micelle est différente.

De là découle que toute circonstance qui va abaisser la pression osmotique, diminuera la stabilité du colloïde. Et comme la pression osmotique est liée au nombre des micelles et dépend de leur ionisation, étant donné que le nombre des micelles varie entre des limites peu étendues quand le colloïde subit des transformations, tout le phénomène de la coagulation dépendra en fin de compte de l'ionisation des micelles.

Les causes de variation de cette ionisation sont très nombreuses. L'ionisation peut varier avec la température, soit en décroissant, ce qui est le cas général, soit en croissant, comme dans le cas de la gélatine. Elle peut varier par suite de l'addition d'une substance quelconque, même non électrolyte: l'addition d'alcool ou d'acétone abaissera, par exemple, en général l'ionisation. Un

autre facteur qui y peut intervenir, c'est la présence dans le liquide intermicellaire d'ions de même nature que les ions extérieurs de la micelle. Quand deux sels ayant un ion commun sont simultanément dissous dans un liquide, la présence de l'un diminue l'ionisation de l'autre. Il en est de même dans le cas des colloïdes.

Mais le rôle le plus important est joué par la partie active de la micelle, selon ses affinités et fonctions chimiques. Si on apporte des réactifs, une substitution des ions libres de la micelle par d'autres atomes (provenant des réactifs) aura lieu qui fera varier l'ionisation. La partie inerte n'y joue qu'un rôle passif.

Les phénomènes d'adsorption qui peuvent se produire à la surface de la micelle peuvent avoir aussi une grande importance, puisqu'ils modifient cette surface, ce qui entraîne des variations dans l'ionisation. En d'autres termes, cela veut dire que la stabilité d'un hydrosol sera sensible vis-à-vis des changements dans la composition chimique du liquide intermicellaire d'un hydrosol.

Jacques LÆB exprime la même idée, sous une forme un peu différente. Il soutient que la stabilité d'un hydrosol est liée à charge électrique des micelles, ou à la différence de potentiel entre les micelles et le liquide ambiant. Cela revient à dire que la pression osmotique est sous la dépendance de l'ionisation de la micelle.

On peut aussi se représenter le phénomène, en se basant sur la tension superficielle.

Chaque liquide présente, à sa surface, une sorte de tension. Lorsque le liquide renferme des particules gazeuses, la tension superficielle agit comme si lesdites particules étaient entourées d'une sorte de membrane,

qui empêche les particules de fusionner et même de se toucher.

Dans le cas de solutions colloïdales, cette tension superficielle empêche la coagulation, cela veut dire qu'elle est un agent de la stabilité d'un colloïde. Cette tension se trouve sous la dépendance des substances en solution dans le liquide intermicellaire: elle sera généralement plus faible si le liquide est plus riche en éléments dissous ou en ions. Cela nous explique pourquoi l'addition des doses massives de divers corps solubles produit la transformation d'un hydrosol en hydrogel.

Donc on peut dire, en se plaçant à ce point de vue, que la coagulation a lieu par addition d'une substance qui produit une diminution de la tension superficielle dans le liquide intermicellaire, et de là fusionnement des micelles.

Nous pouvons classer en trois groupes les corps susceptibles d'agir sur un hydrosol:

1° Les corps stabilisants. Ce sont des corps qui ont les mêmes fonctions chimiques que la micelle. On peut expliquer leur action par l'augmentation de la partie active à laquelle ils contribuent. Toutefois, il y a lieu de remarquer qu'ils doivent être employés en petite quantité, car, à doses massives, ils peuvent amener la coagulation comme des sels quelconques.

2° Les corps inactifs, qui ne produisent pas de modification de la pression osmotique et de la tension superficielle. Ce sont, dans la plupart des cas, des sels strictement neutres et les produits organiques non ionisables en solution aqueuse. Pris en quantité suffisante, par une action de masse, ils coagulent le colloïde.

3° Coagulants spécifiques. Pris en petite quantité, ils amènent la coagulation. Ces corps augmentent la pression osmotique et diminuent la tension superficielle du liquide intermicellaire. Ces coagulants spécifiques sont différents pour chaque colloïde, la composition chimique de la partie active des micelles variant d'un colloïde à l'autre.

Aucune loi générale ne permet de découvrir ces corps.

Il y a une curieuse théorie qui veut expliquer avec une exactitude quasi-mathématique le phénomène de la coagulation, mais il y a de nombreux faits qui la contredisent. Nous l'exposerons brièvement.

La micelle est un sel comprenant un gros ion à valence élevée: son ionisation sera d'après cela d'autant plus faible que les ions libres auront eux-mêmes une valence plus élevée. S'il arrive donc que par un phénomène quelconque, les ions libres monovalents d'une micelle sont remplacés par des ions polyvalents, il se produira une diminution considérable de la pression osmotique et de la stabilité. L'ionisation, dans ce cas, sera plus faible, la stabilisation par conséquent diminuera. D'autre part, nous savons que si deux ou trois ions monovalents sont remplacés par un seul ion divalent ou trivalent, cela causera une nouvelle diminution de la pression osmotique, puisque la charge électrique d'un ion est sans aucune influence sur son rôle osmotique.

On peut donc prévoir que tous les sels à ions polyvalents auront une action précipitante plus forte que les monovalents.

Cette théorie, qui avait pendant un certain temps la

prétention d'expliquer d'une manière tout à fait exacte l'action coagulante des différents corps, n'a rien d'absolu. Elle pourra seulement nous donner là-dessus des renseignements généraux. Il y a beaucoup de corps qui auront une valence très élevée et leur pouvoir précipitant sera faible. Par exemple, le thorium tétravalent a une action précipitante qui n'est pas supérieure à celle de l'aluminium trivalent.

Ce qui est plus important pour déceler les causes et le mécanisme de la coagulation, c'est l'étude du signe de l'ion précipitant.

L'électrisation des particules colloïdales fait naître entre elles des forces répulsives qui s'opposent à leur agglutination. Par conséquent, une diminution de la charge, entraînant une diminution de la force répulsive, peut diminuer la stabilité de la solution colloïdale. La floculation se produira lorsque les forces répulsives entre les particules ne seront plus suffisantes pour contrebalancer les forces d'attraction entre ces dernières.

En d'autres termes, cela veut dire que, dans le sel précipitant, l'ion qui est du même signe que l'ion libre de la micelle, c'est-à-dire l'ion du signe opposé à celui du colloïde (signe du granule), sera celui qui aura une action précipitante.

Cela a permis à HARDY d'émettre la loi suivante :
« Les ions à action spécifique dans le phénomène de la coagulation sont ceux de signe opposé à celui du colloïde ».

La question se complique dans le cas des colloïdes amphotères. Les granules de ces corps peuvent avoir,

suivant la réaction du liquide, une charge négative ou positive.

Pour précipiter ces corps, il faut les amener à leur point isoélectrique, qui sera caractérisé par un minimum de stabilité et de pression osmotique. Si un colloïde amphotère se trouve à son point isoélectrique, il ne se déplacera ni vers l'anode, ni vers la cathode, c'est-à-dire qu'il se forme une sorte d'équilibre entre ses fonctions acide et alcaline. Le point isoélectrique, qui se mesure par le pH du milieu, varie d'une matière protéique à l'autre, dans des proportions sensibles. Les nombres qui suivent montrent sa valeur pour quelques matières protéiques :

	pH
	—
Globuline	5,44
Caséine	4,62
Hémoglobine	6,70
Sérum albumine	4,70
Ovalbumine	4,80

LES PHENOMENES D'ADSORPTION DANS LES SOLUTIONS COLLOIDALES

Nous constatons le phénomène d'adsorption quand une substance gazeuse ou dissoute va se fixer sur une autre substance solide, liquide ou gazeuse, sans qu'il y ait ni réaction chimique évidente, ni dissolution propre-

ment dite. Les phénomènes d'adsorption sont très généraux. L'industrie de teinture est fondée sur leur existence.

On attribue ce phénomène aux actions de surface ; avec des surfaces de contact suffisamment étendues, l'adsorption se produit toujours. Certes, il y a pour l'adsorption certaines règles d'affinité, mais elles sont très vagues. On a observé que l'adsorption est d'autant plus forte que le poids moléculaire est plus grand. Les matières colorantes, en raison de leur poids moléculaire élevé, sont en général soumises à une adsorption très forte.

La cause première de l'adsorption est encore incomplètement connue. Certains y voient une réaction chimique, d'autres un phénomène purement physique.

Cependant, les faits observés jusqu'à maintenant ont permis d'énoncer quelques règles de l'adsorption.

1° La quantité de matière fixée est proportionnelle à la surface du corps adsorbant.

2° L'adsorption dépend aussi de la nature du corps adsorbant et de celle du corps adsorbé. Les règles d'affinité qui y interviennent ne jouent qu'un rôle très restreint.

3° L'adsorption n'est pas un phénomène instantané, c'est-à-dire qu'elle croît avec le temps.

4° L'adsorption est limitée. Quand cette limite sera atteinte, nous aurons atteint un état d'équilibre. Les deux facteurs de l'équilibre seront : d'une part, la quantité du corps adsorbé sur l'adsorbant par unité de vo-

lume (concentration de l'adsorbé dans l'adsorbant) ; d'autre part, la quantité de l'adsorbé restant libre dans la solution par unité de volume (ou concentration dans le solvant). L'équilibre ne peut subsister que s'il y a un certain rapport entre ces deux concentrations, rapport qui dépend à la fois de l'adsorbant et de l'adsorbé.

CONCLUSIONS

Mais il faut ajouter qu'on ne doit pas exagérer l'action des surfaces. LANGMUIR, John A. WILSON et WYNARETTA H. WILSON ont apporté une fort importante contribution à la question de l'application de la formule d'adsorption aux problèmes relatifs aux colloïdes. Ils rejettent la formule d'adsorption et adoptent une interprétation purement chimique.

On a démontré que la loi de Proust, la loi des proportions définies, régit les combinaisons des protéines avec les acides et les alcalis.

Pour le moment, il y a des partisans de l'une ou de l'autre théorie, et comme toujours dans de tels cas, la vérité est probablement au milieu ; il y a certainement une action physique des surfaces, action qui fausse, dans ce cas, les combinaisons, ayant tendance à se former suivant la loi des proportions définies.

ACTION RECIPROQUE DES COLLOIDES

Il n'y a pas de règle générale qui nous permette de prévoir le sort de deux colloïdes mélangés : suivant les cas, il ne se produit rien, ou bien il se produit une précipitation partielle ou totale. On peut, à l'heure actuelle, énoncer seulement quelques principes, à titre de renseignements généraux et assez vagues.

1° Si les deux colloïdes sont de même signe électrique, il n'y a pas, en général, de précipitation. Les granules ne viennent pas en contact et ne peuvent réagir l'un sur l'autre : les ions extérieurs étant du même signe, ne peuvent pas se combiner l'un à l'autre. Mais la question peut parfois se compliquer : rien n'empêche les ions libres d'agir les uns sur les autres autrement qu'en se combinant. Par exemple, d'après FREUNDLICH, un mélange d'hydrosols de sulfure d'arsenic et de soufre n'est pas stable : cela tient à ce que les ions libres se détruisent mutuellement.

2° Si les deux colloïdes sont de signe électrique différent, il y a souvent précipitation, au moins si le mélange des colloïdes est en proportions convenables. Le phénomène se produira toujours si les ions libres des deux colloïdes ne peuvent coexister, soit qu'ils se neutralisent, soit qu'ils donnent naissance à un composé insoluble.

3° L'addition d'un colloïde à un autre le protège parfois contre la coagulation. Cette action protectrice se

manifeste quand le premier colloïde est stable et le second instable au contraire.

D'après ZSIGMONDY, une quantité de gélatine ne dépassant 0 mg. 5 par litre, suffit à protéger un hydrosol d'or contre l'action coagulante de chlorure de sodium.

On suppose, pour expliquer ce phénomène, que les colloïdes protecteurs empêchent mécaniquement les micelles du colloïde protégé de se réunir pour former les flocons de coagulum.

La question des colloïdes protecteurs est très importante dans la chimie du lait, et dans le deuxième chapitre nous l'étudierons plus largement.

CHAPITRE DEUXIEME

LES MATIERES ALBUMINOIDES DANS LE LAIT

Les matières protéiques se trouvent dans le lait à l'état colloïdal.

La question des matières albuminoïdes dans le lait est encore aujourd'hui très vivement discutée. Nous nous trouvons en présence de deux théories principales.

L'une, d'un côté, voit dans les matières albuminoïdes du lait une seule et unique espèce, se trouvant, partie en suspension solide, partie à l'état colloïdal, partie en solution véritable. L'autre, au contraire, voit dans les matières albuminoïdes du lait trois constituants, la caséine, l'albumine et la globuline.

Dans les dernières années, la seconde théorie prend de plus en plus le dessus et presque chaque jour différentes expériences apportent des nouveaux arguments en sa faveur.

Pour caractériser ces trois corps, il y a beaucoup de moyens, à savoir :

1° L'analyse chimique de leur composition élémentaire;

- 2° L'étude de réversibilité de ces différents colloïdes;
- 3° La question de la protection dans le lait, par rapport à son hétérogénéité micellaire;
- 4° L'emploi de la filtration sur bougies de porcelaine et celui de l'ultrafiltration :
- 5° Leurs façons différentes de se comporter vis-à-vis des réactifs;
- 6° Les différences quantitatives et qualitatives des divers acides animés que l'on trouve dans ces corps.

Nous commençons notre étude par la plus importante des matières albuminoïdes du lait, la caséine.

LA CASEINE

La caséine est la protéine caractéristique de la sécrétion lactée: elle résulte du travail propre de la cellule mammaire.

Elle appartient au groupe des phosphoprotéïdes, pseudo ou paranneléoprotéïdes. Elle existe dans tous les laits, mais en proportions variables.

Dans le lait de vache, la quantité de caséine par litre sera de 25-30 grammes; dans celui de la femme, qui est un lait contenant une proportion élevée d'albumine, seulement 5 grammes par litre. Le taux de ses variations au cours de la période de lactation d'une vache sera de 30-40 %. Jusqu'à présent, on ne sait pas encore si les

caséines des différents laits sont des corps identiques ou non. M. PORCHER soutient que, « de même qu'il n'est qu'un seul sucre dans tous les laits: le lactose, et que tous les lactoses sont identiques, il n'est qu'une seule caséine, ou du moins les caséines appartiennent-elles très étroitement à un même type chimique ». Cette conception est en contradiction avec certains faits et expériences que nous allons invoquer ici rapidement.

ABDERHALDEN et SCHITTENHELM ont obtenu, en hydrolysant la caséine du lait de vache et de chèvre et en dosant les quantités des divers éléments obtenus, les chiffres suivants:

Produits de l'hydrolyse	Caséine du lait de vache	Caséine du lait de chèvre
Tyrosine	4,50	4,95
Leucine	10,50	7,40
Alanine	0,90	1,50
Proline	3,10	4,62
Phénylalanine	3,20	2,72
Acide aspartique .	1,20	1,10
Acide glutamique .	10,70	11,25
Acide di a m i n o - trioxydodérique.	0,75	traces

De là se dégage la conclusion que la caséine du lait de vache et du lait de chèvre sont séparées par des différences profondes.

SCHUTHE a effectué des expériences intéressantes relatives à ce sujet. Avant lui, BORDET a observé qu'un animal inoculé à plusieurs reprises avec du lait de vache fournit un sérum sanguin qui, additionné au lait de vache, en précipite les matières albuminoïdes. SCHUTHE s'est proposé de rechercher si les substances du sérum capables de coaguler le lait sont spécifiques ou non. A cet effet, il injecte à des lapins du lait de vache, de chèvre et de femme et examine l'action du sérum de ces animaux vis-à-vis de ces différents laits.

Il constate ainsi que les sérums n'exercent une action coagulante que vis-à-vis des laits avec lesquels les animaux ont été injectés, c'est-à-dire que le lapin qui a reçu du lait de vache fournit un sérum qui coagule le lait de vache et est sans action sur le lait de chèvre ou de femme.

Ces expériences établissent nettement que les albuminoïdes des différentes espèces de lait sont différentes entre elles.

La composition élémentaire de la caséine, qui a fait l'objet de nombreuses recherches, a donné à l'analyse les résultats centésimaux suivants :

	C	H	N	P	S	O
	-	-	-	-	-	-
Hammarsten.....	52,96	7,05	15,05	0,848	0,758	
Fangl.....	52,69	6,81	15,65	0,877	0,832	23,14
Burow.....	52,825	7,095	15,64	0,808	0,725	22,906
Vans Slyke et Bosworth	53,50	7,13	15,80	0,710	0,72	
Chitlenden-Painder . .	53,30	7,07	15,91	0,84-0,89	0,82	

La caséine contient alors, à côté des quatre éléments essentiels des protéines: C, H, O et N, du phosphore et du soufre. Les moyennes de ces deux derniers éléments dans le lait de vache seront à peu près 0,8 %.

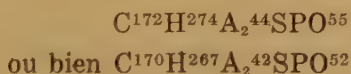
Jusqu'aujourd'hui, on a isolé presque la totalité des acides aminés de la caséine. Au point de vue quantitatif, les plus importants sont: acide glutamique (21,77 %), acide hydroxyglutamique (10,50 %), proline (8,70 %), lysine (7,72 %), valine (7,93 %), leucine (7,92 %), tyrosine (5,70 %), acide aspartique (4,10 %).

Comme la quantité d'acides glutamique, aspartique, hydroxyglutamique atteint environ 36,4 %, la réaction de la caséine sera nettement acide.

A l'acidité due aux groupements COOH s'ajoute celle des oxhydryles phosphoriques.

Le phosphore se trouve dans la caséine sous forme complètement oxydée d'acide orthophosphorique.

On admet généralement que la caséine a un poids moléculaire de 12.000. D'autres auteurs donnent des chiffres différents, par exemple 540, ce qui correspondrait à la formule suivante:



Les propriétés de la caséine sont actuellement assez bien connues. Elle est insoluble dans l'eau, peu soluble dans les solutions des sels; elle donne, avec les alcalis dilués, grâce à ses propriétés acides, des solutions parfaites, d'où elle est précipitée par addition d'un acide quelconque, soit minéral, soit organique.

Elle est soluble dans la résorcine, comme l'a démontré LINDET, et parfois même complètement, dans les acides concentrés avec lesquels elle se combine.

La caséine est insoluble dans l'alcool et dans l'éther, qui la précipitent de ses solutions; elle est précipitée totalement de ses solutions par le sulfate de magnésium à saturation à la température ordinaire, par l'alun de potassium, par le chlorure de calcium.

Sa précipitation par la présure est utilisée dans l'industrie fromagère. Elle ne coagule pas par la chaleur.

Elle a un caractère amphotère, mais ses fonctions acides emportent sur les fonctions basiques. Elle donne avec les bases des caséinates. Elle forme également des combinaisons avec certains sels, et surtout avec les phosphates terreux.

LAGNEUR et SACHUR, qui ont étudié la conductibilité électrique des solutions de caséine dans la soude étendue, ont montré qu'elle se comportait comme un acide tétra-basique.

Les solutions de caséine sont lévogyres et l'intensité de la rotation varie avec la nature du solvant.

Dans l'acide chlorhydrique étendu, HOPPE SEYLER a obtenu $[\alpha]_D = -87^\circ$.

Dans une solution de l'acide phosphorique, LINDET et AMMAN ont constaté -99° .

Le point isoélectrique de la caséine est entre pH 4,6-4,7.

La question la plus importante qui se pose, c'est l'état de la caséine dans le lait. HAMMARSTEN a émis l'idée que la caséine s'y trouve à l'état d'un système: caséinate de calcium + phosphate de calcium. Quand on

précipite, en effet, la caséine en milieu neutre, on la trouve toujours salifiée sous la forme calcique et simultanément on constate que du phosphate de calcium s'y trouve associé. Mais le phosphate de calcium est indépendant, soit physiquement, soit chimiquement, du caséinate de calcium. Leur liaison a une forme purement colloïdale et le caséinate protège le phosphate.

Le caséinate calcique est un colloïde réversible: si on évapore sa solution, il donne un résidu qui se redissout bien dans l'eau, en récupérant le degré antérieur de sa dispersion micellaire et donnant une liqueur stable.

Dans le complexe: caséinate de calcium + phosphate de calcium, c'est le phosphate de calcium qui est le plus fragile des deux colloïdes en présence: c'est lui qui subit la plus forte modification sous l'influence de la chaleur, au point de pouvoir être considéré comme un colloïde vraiment irréversible.

Cet élément, caractérisé par un manque de stabilité, a besoin d'être protégé. La dimension de ses micelles sera à peu près de 50 milimicrons, la moitié environ de celle des particules de graisse.

Il sera protégé donc par un colloïde plus stable, le caséinate de calcium, dont les particules sont moindres. D'après SVEDBERG et FAHRANS, les particules du caséinate de calcium ont un rayon de 10-17 milimicrons, mais WIEGNER est d'avis que leur dimension varie entre 5 et 10 milimicrons. On admet actuellement que leur rayon ne dépasse pas sensiblement 20 milimicrons.

Cette constatation permet de dire que le phosphate de calcium, colloïde irréversible, de dimension micellaire relativement grande, sera protégé par le caséinate de

calcium, colloïde réversible, stable, de dimension micellaire plus petite.

D'autre part, tout ce système, caséinate de calcium + phosphate de calcium, sera protégé par l'albumine et la globuline, qui ont des micelles encore plus fines que le caséinate de calcium.

Dans ce phénomène, le rôle le plus important sera joué par la globuline, dont le pouvoir protecteur est très élevé. Comme il découle des chiffres de ZSIGMONDY, la globuline a une force de protection de 100-160 fois plus grande que l'albumine.

Par quel mécanisme s'exerce l'action protectrice? On suppose aujourd'hui qu'elle est la conséquence d'un phénomène d'adsorption du colloïde protecteur par le colloïde protégé.

Ces notions acquises, nous pouvons ajouter que la quantité de calcium combinée à la caséine sera environ de 1,07 %, ce qui correspond à 1,498 % de CaO. Il est probable que la caséine contient environ 0 gr. 50 de phosphore.

Nous devons remarquer que, dernièrement, on a mis en doute l'homogénéité de la caséine, et certains auteurs la considèrent comme un mélange de quelques corps différents.

Déjà en 1880, DANILEVSKY et RADENHAUSEN ont observé que la caséine est partiellement soluble dans l'alcool à 50 % à l'ébullition.

OSBORNE et WAKERMAN ont pu retirer de la caséine par action de l'alcool chaud, une petite quantité, 0,5 %, d'un protide soluble dans l'alcool et exempt de phosphore.

KOBAK a constaté que la caséine du lait de vache et celle du lait de femme est partiellement soluble dans les solutions diluées de quelques sels minéraux, notamment le chlorure de sodium, le sulfate de magnésium et le sulfate de sodium.

LINDERSTRÖM LANG, en étudiant la question, est arrivé aux conclusions suivantes :

1° La solubilité de la caséine dans HCL dilué en présence de chlorure de sodium, à température et concentration égales, était fonction de la quantité mise en œuvre, comme si la caséine était composée d'au moins deux fractions de solubilité différente.

2° On peut obtenir des fractions qui se distinguent par leurs propriétés chimiques (composition centésimale, proportion des amino-acides, dans les produits d'hydrolyse) et physico-chimiques (vitesse de coagulation par la présure, pouvoir neutralisant vis-à-vis des bases).

Emile CHERBULIEZ et L. SCHNEIDER ont fractionné la caséine par le chlorure d'ammonium et ont obtenu deux caséines : 1° α (insoluble dans le chlorure d'ammonium) ; 2° β (soluble dans le chlorure d'ammonium). D'après ces auteurs, la composition centésimale de ces deux fractions est la suivante :

	C	H	N	S	P
Caséine α	52,52	7,12	15,25	0,61	0,72
Caséine β	52,60	6,88	15,34	0,75	2,32

Il est encore difficile de commenter toutes ces expériences, mais remarquons en passant que la constatation de l'hétérogénéité des différentes matières albumi-

noïdes dans le lait détruit la supposition de DUCLAUX, qu'il n'y a qu'une seule et unique protéine dans le lait.

L'ALBUMINE

La lactalbumine est identique à l'albumine du sérum.

Elle existe en faible proportion dans le lait: le lait de vache en contient environ 0,5 %. OSBORNE et WAKERMAN y ont trouvé seulement 2 gr. 4 par litre.

Dans le lait de brebis et dans les différents colostrums, son taux est plus élevé. Elle est caractérisée par ce fait qu'elle est coagulée par la chaleur seule en milieu neutre ou acide à une température supérieure à 70°. Pour montrer son existence, on peut également traiter du lait de vache cru par du sulfate de magnésium à saturation, qui, à la température ordinaire, précipite à la fois la caséine et la lactoglobuline, on jette le tout sur un filtre à plis et obtient un filtrat parfaitement limpide qui se trouble par la chaleur ou par l'acide acétique, preuve de l'existence d'une matière albuminoïde ne précipitant par le sulfate de magnésium à saturation, réaction caractéristique, des albumines vraies.

Le pouvoir rotatoire de la lactalbumine est $[\alpha]_D = -30^\circ$ à -37° .

Son point isoélectrique sera à pH 4,7. Différents auteurs donnent des chiffres divers.

Au point de vue chimique, ce corps diffère de la

caséine par l'absence du phosphore, et sa composition chimique serait environ la suivante :

C	=	52 %
H	=	7 %
Az	=	16 %
S	=	2 %
O	=	23 %

L'hydrolyse des diverses albumines a donné des résultats qui ne permettent pas de conclure à l'identité des albumines des différents laits.

Les caillés d'albumine sont en général très mous, sans consistance, sans cohésion, s'émiettent très facilement et sont difficiles à séparer du sérum.

Au point de vue industriel, l'albumine n'a ni les propriétés, ni les usages de la caséine. Elle a une couleur blanche tirant sur le gris et elle n'a ni les propriétés plastiques de la caséine à la présure, ni les propriétés collantes de la caséine lactique.

LACTOGLOBULINE

Le lait, débarrassé de sa caséine par l'acide acétique et par filtration, est additionné d'alcali pour neutraliser l'acide restant. A ce filtrat on ajoute le sulfate de magnésium à saturation : ce sel précipite une matière de nature albuminoïde, appartenant au groupe des globulines, existant en très faible proportion.

OSBORNE et WAKERMAN en trouvent seulement 0 gr. 2 par litre de lait de vache, PIETTRE 2 gr. 2, PICHON-VEUDEUIL 2-3 grammes par litre.

La lactoglobuline est coagulable par la chaleur et précipitée totalement de ses solutions par le sulfate de magnésium à saturation à la température ordinaire.

L'action des sérums précipitants est en faveur de l'identité de la sérum-globuline et de la lacto-globuline.

L'hydrolyse de la globuline fournit du glyocolle.

La globuline a un pouvoir rotatoire de $-47^{\circ}6$, d'après FRÉDÉRICQ.

PIETTRE a trouvé $-31^{\circ}12$ en solution aqueuse sodique.

LA COAGULATION DU LAIT

La coagulation du lait, dans laquelle jouent un rôle principal ses matières albuminoïdes, peut être obtenue soit par des coagulants chimiques, soit par des coagulants biologiques.

Tous les acides sont des coagulants du lait, aussi bien les acides minéraux que les acides organiques. On suppose que les ions des granules de la caséine sont des ions OH et c'est pourquoi les ions H^{+} peuvent exercer une action coagulante.

Dans la généralité des cas, les bases sont des anti-coagulants : comme ce sont aussi des corps fortement ionisés en solution aqueuse, les ions en excès étant des ions OH^{-} , la conclusion à tirer de là est la même que pour

les acides, à savoir que le granule de caséine est constitué par des ions OH —.

Les sels ont une action différente, suivant qu'en solution aqueuse ils s'ionisent en donnant des ions H + ou des ions OH —, ou bien ne s'ionisent pas du tout.

S'ils donnent des ions H +, c'est-à-dire ont une réaction acide, ce sont des coagulants du lait.

S'ils donnent des ions OH —, c'est-à-dire ont une réaction alcaline, ce sont des anticoagulants. Enfin, s'ils ne s'ionisent pas, comme le sucre par exemple, ils sont indifférents et n'exercent aucune action, ni dans un sens, ni dans l'autre sur la coagulation.

Ce qui caractérise toutes ces coagulations acides, c'est qu'elles ne se produisent que si la concentration acide a atteint une certaine valeur, et à ce moment la coagulation est instantanée et rappelle la précipitation chimique.

La quantité d'acide nécessaire pour coaguler le lait est toujours très faible; mais, malgré cela, l'acide produit une coagulation plus complète que la présure, qui est utilisée dans des proportions plus grandes.

FRIEDHEIM a trouvé que pour les laits de vache et de chèvre, la proportion d'azote non coagulé restant dans le petit lait est de 33 à 35 % dans la coagulation par la présure, et seulement de 23 à 24 % dans la coagulation par les acides.

Les coagulants biologiques du lait sont des produits d'origine végétale ou animale. On les désigne sous le nom général de présures ou de lab-ferment. Ce sont des diastases qu'on ne connaît que d'après l'action qu'elles exercent.

L'action de la présure est progressive puisque la coagulation du lait ne suit pas instantanément l'addition de présure, mais a lieu au bout d'un temps plus ou moins long, variable suivant les conditions de l'opération.

L'action de la présure dépend aussi étroitement de la température. La force maxima a lieu à 40° - 41° ; elle est pratiquement nulle au-dessous de 15° , c'est-à-dire que la coagulation pratiquée à cette température dure un temps infini et donne un caillé extrêmement mou.

L'action de la présure dépend aussi des conditions chimiques du milieu, en particulier de la présence des acides, des bases ou des sels minéraux.

Les acides coagulant eux-mêmes la caséine sont des accélérateurs de la coagulation. Mais il semble que ce ne soit pas seulement comme coagulants que les acides agissent : la présure ne fonctionne qu'en milieu neutre ou acide, la présence des acides est pour son action une condition indispensable.

Quant aux sels minéraux, leur rôle est différent selon leur nature.

Les carbonates, sulfates, nitrates, phosphates, iodures, bromures, chlorures, fluorures et oxalates de potasse et de soude (sels alcalins), qui ont un caractère nettement alcalin, retardent d'autant plus l'action de la présure qu'ils sont plus concentrés.

Les sels de chaux, de magnésie et d'alumine (sels alcalino-terreux et terreux) accélèrent tous la coagulation à faibles doses, mais la retardent généralement à doses élevées.

Le chlorure de calcium joue en particulier le rôle d'accélérateur de la coagulation.

Selon VAN DAM, qui a étudié la question, l'addition de chlorure de calcium a pour effet d'augmenter la concentration en ions H^+ .

Le chloroforme, le thymol et le formol exercent une action paralysante sur la présure. Le mécanisme intime de la coagulation du lait n'a pas été encore bien approfondi; notons seulement qu'il y a beaucoup de théories en présence, se contredisant les unes les autres.

CHAPITRE TROISIEME

ETUDE COMPARATIVE ET CRITIQUE DES DIVERSES METHODES DE DOSAGE DES MATIERES PROTEIQUES DANS LE LAIT

Le dosage des matières protéiques dans le lait est assez rarement effectué. On les calcule souvent d'après la différence entre l'extrait dégraissé et la somme: lactose + cendres. Ce fait ne doit pas nous surprendre, puisque toutes les méthodes du dosage dont nous disposons à l'heure actuelle sont assez délicates et ne donnent que très rarement des résultats exacts.

On peut dire que jusqu'au moment où on n'aura pas une conception nette de la nature exacte des matières albuminoïdes du lait, nous continuerons à avoir des méthodes variant d'un auteur à l'autre, qui ne nous donneront pas de chiffres analogues et parfois même des résultats qui ne seront pas comparables.

En étudiant chacune de ces méthodes, nous en faisons la critique en nous basant pour cela sur les résultats de nos analyses. En présence des difficultés de certaines méthodes, de l'infidélité de certaines autres, nous avons été amenés à étudier une nouvelle méthode basée sur l'emploi du réactif silicotungstique, qui est à l'heure

actuelle peut-être le meilleur précipitant des matières protéiques.

Nous n'avons pas voulu discuter à part notre nouvelle méthode, mais nous l'étudions en même temps que les autres méthodes gravimétriques. Pour ne pas alourdir inutilement notre exposé, nous avons reporté à la fin de notre travail les résultats analytiques sur lesquels s'appuient nos conclusions. Nous ne donnons ici qu'une centaine d'analyses, bien qu'avant de conclure nous en ayons exécuté un nombre bien plus considérable.

Pour la clarté de l'étude, nous classons les méthodes du dosage des matières protéiques du lait en quatre groupes :

1. Volumétriques ;
2. Gravimétriques ;
3. Electrique ;
4. Colorimétrique.

METHODES VOLUMETRIQUES

I. Méthode de Kjeldahl

Principes. — Sous l'action d'acide sulfurique concentré, tous les groupements amidés sont transformés en ammoniacque que l'on dose ensuite en la distillant dans un acide titré.

Technique. — On met dans un ballon 10 centimètres cubes de lait, puis on dessèche ce lait à l'étuve, On y

verse 10 à 20 centimètres cubes d'acide sulfurique pur ; on ajoute 0 gr. 5 de mercure, jouant un rôle de catalyseur, qui facilite l'attaque. On chauffe à l'ébullition jusqu'à la destruction complète des matières organiques. Quand le liquide est d'une entière limpidité, on le laisse alors refroidir. Puis on le verse dans un ballon en verre d'Iéna ou en pyrex, à fond rond, à long col, d'un litre de capacité, renfermant 200-300 centimètres cubes d'eau distillée froide, et on réunit les eaux de lavages dans le ballon.

On introduit ensuite 1 gramme d'hypophosphite de soude qui précipite le mercure et l'empêche de retenir l'azote sous forme organo-métallique.

On verse la lessive de soude jusqu'à l'obtention d'une réaction alcaline. On ajoute quelques grenailles de zinc pour faciliter l'ébullition et quelques morceaux de pierre ponce pour éviter la formation de la mousse. Puis on adapte le ballon à un serpentín ascendant de Schlösing-Aubin ou de Kjeldahl.

On porte à l'ébullition et on recueille l'ammoniaque qui distille dans un petit ballon contenant une quantité donnée d'acide sulfurique titré (normal ou décínormal dans la généralité des cas). On continue la distillation jusqu'au moment où il n'y a plus d'ammoniaque. On ajoute quelques gouttes d'héliantine ou de phénolphtaléine et on dose l'acide restant, à l'aide d'une solution titrée de soude ou de potasse.

Un centimètre cube d'acide sulfurique normal correspond à 0 gr. 017 d'ammoniaque ou 0 gr. 014 d'azote ; on en peut facilement déduire la teneur du lait en azote.

Pour avoir la quantité de matières azotées totales, on

multiplie le nombre ainsi trouvé par un coefficient qui varie, suivant les auteurs, de 6,25 à 6,557. Le coefficient le plus employé est 6,30 ou 6,39. Dans nos calculs, nous avons adopté le coefficient officiel 6,557.

Critique. — La méthode de Kjeldahl, universellement connue et appliquée pour le dosage de l'azote des différents produits, représente cependant quelques graves inconvénients. M^{lle} WEISSMANN, du Laboratoire de l'Ecole de Laiterie de Nancy, a remarqué qu'après la distillation de toute l'ammoniaque dans le petit ballon contenant de l'acide sulfurique, si on continue le chauffage on constate une réaction alcaline du distillat.

Après avoir effectué un nombre important d'expériences sur la méthode de Vyéldahl, nous sommes arrivés, M^{lle} WEISSMANN et moi, aux conclusions suivantes :

1° Malgré les précautions prises, on constate toujours la présence de la soude dans le distillat.

2° La proportion de la soude dans le distillat augmente avec la concentration du liquide dans le grand ballon.

3° La soude qui est entraînée avec l'ammoniaque rend les résultats obtenus par cette méthode beaucoup plus forts qu'ils ne sont en réalité.

Outre cette faute, propre à la méthode elle-même, il y a encore une cause d'erreur, à savoir la valeur du coefficient adopté. DORNIC remarque avec raison que, pour un lait renfermant 5 grammes d'azote total par litre, la différence entre les teneurs en matières azotées

est d'un gramme et demi suivant qu'on adopte l'un ou l'autre des coefficients extrêmes.

Ces deux causes d'erreur diminuent dans une grande partie la valeur de cette méthode qui jouit pourtant dans tous les pays d'une renommée de méthode infaillible.

Remarque. — La critique formulée ici se rapporte naturellement à toutes les autres méthodes qui, dans leur mode opératoire, ont recours au dosage de l'azote par le procédé de Kjeldahl.

2. Méthode d'Orla Jensen

Dosage de la caséine et d'albumine

Principe. — Cette méthode se base sur la précipitation de la caséine par l'action conjuguée de l'acide acétique et du courant de CO_2 , et, d'autre part, sur la précipitation de l'albumine et de la globuline par l'acide phosphotungstique.

Technique. — Pour la séparation de la caséine, on opère sur 50 centimètres cubes de lait étendus avec 100 centimètres cubes d'eau distillée; on ajoute avec précaution de l'acide acétique à 1 % jusqu'à commencement de précipitation de la caséine; à partir de ce moment, on verse encore 5 centimètres cubes du même acide, et dans le liquide on fait passer pendant une demi-heure un courant d'acide carbonique. Orla JENSEN admet que, par ce traitement, il précipite entièrement la caséine et la ca-

séine seule. Après avoir complété à 250 centimètres cubes avec de l'eau distillée, on filtre pour séparer la caséine précipitée. Dans une partie aliquote du filtrat (par exemple dans 50 centimètres cubes correspondant à 10 centimètres cubes de lait), on détermine l'azote par le procédé Kjeldahl; on obtient un nombre a qui correspond à l'azote des matières azotées autres que la caséine.

L'azote de la caséine est représenté par b = azote total — a ; la quantité de caséine correspondante est obtenue en multipliant b par le facteur 6,39.

Sur une portion de 100 centimètres cubes du même filtrat (privé de caséine), on effectue la séparation de l'albumine et de la globuline. Cette portion est additionnée de 30 centimètres cubes d'acide sulfurique au quart et de 20 centimètres cubes d'une solution au dixième d'acide phosphotungstique. Après un repos de 12 heures, on filtre pour éliminer les substances précipitées par l'acide phosphotungstique. Sur 75 centimètres cubes du filtrat (correspondant à 10 centimètres cubes de lait), on détermine l'azote par le procédé Kjeldahl: soit une quantité c , qui représente l'azote de l'urée, de la créatine, etc., qu'on appelle azote des substances amidées.

La quantité des substances azotées non albuminoïdes est obtenue en multipliant c par le facteur 9,35.

L'azote des matières précipitées par l'acide phosphotungstique (albumine et globuline) est représenté par $d = a - c$, et le poids de ces substances est obtenu en multipliant d par le facteur 6,34.

3. Méthode Waterman

Détermination de la caséine

Principe. — L'auteur précipite la caséine en ramenant le pH du lait vers 4,6, c'est-à-dire vers le point isoélectrique de la caséine.

Préparation du réactif. — Transvaser à la pipette 250 centimètres cubes d'acideacétique normal dans un flacon de 1.000 centimètres cubes. Ajouter 125 centimètres cubes de NaOH normale. Étendre à 1.000 centimètres cubes avec de l'eau distillée et mélanger soigneusement.

Technique. — Transvaser à la pipette 20 centimètres cubes de l'échantillon dans un flacon de 100 centimètres cubes. Ajouter 50 centimètres cubes de réactif, mélanger, étendre à 100 centimètres cubes avec de l'eau distillée et agiter. Mettre le flacon dans l'eau chaude (à 50°-60° C.) et laisser reposer pendant 15 minutes. Refroidir jusqu'à la température de la chambre et filtrer. Filtrer à travers un filtre à plis double et y faire repasser le filtrat une ou deux fois. Filtrer ensuite une fois à travers un filtre de papier durci.

Déterminer l'azote (A) dans 50 centimètres cubes du filtrat et l'azote total (B) dans 10 centimètres cubes de lait: $6,38 \times (B - A) = \text{caséine dans 10 centimètres cubes de lait.}$

Critique. — Cette méthode, qui est une certaine modification de celle d'Orla JENSEN pour la détermination du pourcentage de la caséine du lait, utilisant le procédé Kjeldahl, sera soumise aux mêmes causes d'erreur que nous avons invoquées ci-dessus. D'autre part, si on prend en considération qu'elle nécessite deux filtrations, il est très probable et même certain qu'une partie d'albumine et de globuline restera avec la caséine sur le filtre. Ce phénomène contribuera à fausser les résultats, est c'est pourquoi la méthode d'Orla JENSEN présente une supériorité sur celle-ci, étant d'ailleurs aussi moins longue et onéreuse.

4. Méthode de Moir

Détermination de la caséine

Principe. — Par l'addition de l'acide acétique et de l'acétate de soude, l'auteur ramène la valeur du pH du lait au point pour lequel il y a précipitation maximum de la caséine.

Technique. — On dilue 10 centimètres cubes de lait avec 50 centimètres cubes d'eau préalablement portée à la température de 40-42° C. On ajoute alors 1 cm³ 5 d'une solution d'acide acétique 1,67 N, et on agite le mélange au moyen d'un agitateur en répétant cette opération quatre fois de suite. Au bout de 20 minutes, on ajoute 4 cm³ 5 d'une solution d'acétate de soude 0,25 N et on filtre après au moins une heure de repos. Ces dif-

férentes additions amènent, d'après l'auteur, la valeur du pH du lait à la valeur de 4,6, pour laquelle il y a précipitation maximum de la caséine.

On lave rapidement le dépôt et on détermine sa teneur en azote par application de la méthode de Kjeldahl. Le sulfonate d'alizarine est employé comme indicateur pour le titrage final.

Détermination de l'albumine et de la globuline. —

Pour obtenir la coagulation des protéines qui subsistent après l'élimination de la caséine, l'auteur emploie de l'acide trichloroacétique.

Au filtrat obtenu après la précipitation isoélectrique de la caséine, il ajoute une quantité suffisante d'acide trichloroacétique. On chauffe 30 minutes au bain-marie, on laisse refroidir, on filtre, on lave avec une solution à 1 % d'acide. On dose l'azote dans le précipité par Kjeldahl.

Séparation de l'albumine et de la globuline :

1° On détermine la caséine par précipitation isoélectrique à pH 4,6;

2° On détermine la somme caséine + globuline en saturant la solution de $MgSO^4$ ou de Na^2SO^4 à 20°; on laisse reposer une nuit, on filtre et on lave avec une solution saturée du sel choisi; on détermine le pourcentage d'azote du précipité;

3° On détermine les protéines totales.

Critique. — Nous devons faire une remarque, que si on songe à obtenir une certaine valeur du pH, il est

tout à fait naturel, prenant en considération la variabilité du pH du lait originel sur lequel on travaille, qu'il ne faut jamais opérer avec des quantités de réactifs constantes. Cette façon d'agir nous mènera dans des cas de laits alcalins à la précipitation incomplète de la caséine, et dans le cas des laits acides, nous pourrions observer un phénomène de redissolution partielle des matières protéiques dosées. D'autre part, le choix de l'acide trichloroacétique n'était pas heureux, puisque ce réactif ne précipite pas la totalité des matières protéiques du lait, comme nous le verrons dans ce chapitre consacré à son étude.

5. Méthode de Dénigès

Dosage des matières protéiques totales dans le lait

Principe. — 1° L'insolubilisation par l'iodure mercuropotassique, en milieu légèrement acétique des albuminoïdes du lait, qui entraînent avec eux, en combinaison, une partie de mercure du réactif.

2° Dosage du mercure résiduel par cyano-argentimétrie.

3° Emploi d'un tableau de correspondance que Dénigès a établi expérimentalement entre le mercure précipité et les albuminoïdes entrées en combinaison avec lui.

Préparation des réactifs. — 1° Solution décimormale de nitrate d'argent.

On pèse 17 grammes de ce sel qu'on met dans un matras jaugé d'un litre avec environ un demi-litre d'eau distillée; on agite et la dissolution est complète au bout

de quelques instants. Quand elle est achevée, on lui ajoute 1 cm³ d'acide azotique pour assurer la conservation de la liqueur ; on complète le volume à un litre avec de l'eau distillée, on agite et on conserve en flacons de verre jaune.

2° Solution décinormale de cyanure de potassium.

On met dans un flacon de plus d'un litre 16-18 grammes de cyanure de potassium (le plus pur que fournit le commerce) et un demi-litre d'eau ; après dissolution, on ajoute encore 550-600 cm³ d'eau, 10 cm³ d'hydroxyde de sodium ($D = 1,33$), on agite et on filtre.

On procède alors au titrage du liquide obtenu en mettant dans un vase de Bohème 10 cm³ de cyanure à titrer avec 100 cm³ d'eau, 10 cm³ d'ammoniaque, 1 cm³ d'iodure de potassium à 10 % et versant du nitrate d'argent N/10 jusqu'à opalescence persistante.

Si 10 cm³ de nitrate d'argent N/10 amènent l'opalescence, le cyanure de potassium peut être considéré comme bon pour l'employer.

Chaque deux ou trois semaines, il faut vérifier le titre, surtout pendant l'été.

3° Solution d'iodure mercuripotassique.

Mettre dans un matras d'un litre 13 gr. 55 de HgCL² pur, finement pulvérisé, ajouter de 80 à 100 cm³ au plus d'eau distillée froide et 36 grammes d'iodure de potassium en cristaux. Agiter jusqu'à dissolution et compléter le volume à 1.000 cm³ avec de l'eau distillée.

Cette liqueur est inaltérable.

Technique du dosage. — On met dans matras jaugé de 200 cm³ 25 cm³ de lait, 1 cm³ d'une solution à 30 %

d'oxalate neutre de potassium, 20 cm³ de la solution murcupotassique et 2 cm³ d'acide acétique cristallisable. Compléter le volume à 200 cm³, puis filtrer sur un filtre à plis, en rejetant sur le filtre les premières portions écoulées.

Mettre ensuite dans un vase de Bohème 10 cm³ de cyanure de potassium N/10, 12-15 cm³ d'ammoniaque et 100 cm³ du filtrat précédent. Verser dans le mélange de l'azotate d'argent N/10 jusqu'à opalescence persistante et égale à celle obtenue dans le titrage du cyanure.

Calcul. — Soit q la quantité d'azotate d'argent ainsi dépensée; de cette quantité, qu'on exprime en dixièmes de centimètre cube, on retranche la constante 48 qui représente la quantité d'azotate d'argent N/10 employée pour obtenir un louche final avec 10 cm³ de réactif à l'iodure mercurico-potassique et 10 cm³ de cyanure de potassium N/10 en milieu ammoniacal.

Avec la différence a ainsi obtenue, on se rapporte au tableau de Dénigès qui indique, en grammes par litre de lait, les quantités de caséine correspondant aux diverses valeurs $q - 48 = a$.

Si on n'a pas de tableau, on peut calculer les matières protéiques de la manière suivante: quand a sera compris entre 9 et 24, la dose des matières protéiques totales X par litre de lait sera donnée par l'expression: $X = a - 2$.

Quand a sera compris entre 25 et 32 inclus, on aura:

Enfin, pour a égal ou supérieur à 33, on prendra:

$$X = 2a - 33.$$

Ce procédé convient aussi à l'analyse des laits fer-

mentés, à condition d'ajouter au préalable, aux 25 cm³ de lait mis dans le matras de 200 cm³, 1 cm³ d'oxalate neutre de potassium à 30 %, 2 cm³ de lessive NaOH à 36° B., et d'agiter, avant d'ajouter les 20 cm³ de réactif à l'iodure mercurico-potassique dont l'addition devra être immédiatement suivie de celle de 3 cm³ d'acide acétique et d'une vive agitation.

On achève le dosage comme plus haut.

Critique. — Ce procédé est très rapide; il s'effectue en quelques minutes. Le filtrat qu'on obtient est tout à fait clair et exempt de matières protéiques. Il donne des résultats satisfaisants pour une analyse industrielle. Ces résultats ne sont pas très exacts et un coup d'œil sur le tableau de Dénigès nous indique que l'erreur théorique probable pour des quantités de matières protéiques allant de 26 à 35 grammes par litre de lait est de 2 grammes, et pour des concentrations plus fortes en matières albuminoïdes, elle peut atteindre même 3 gr. 20.

Ajoutons encore que ce procédé nécessite l'emploi de réactifs toxiques et chers.

METHODES GRAVIMETRIQUES

Les méthodes gravimétriques sont extrêmement nombreuses et varient d'un auteur à l'autre. Le problème consistant en la précipitation des matières protéiques totales du lait n'est nullement facile à résoudre en pratique.

Les meilleurs précipitants du lait donnent naissance, dans la grande majorité des cas, à des produits insolubles, qui augmentent dans des fortes proportions le taux de minéralisation de la caséine et, par conséquent, constituent une source d'erreurs.

A notre avis, une bonne méthode pondérale doit satisfaire aux conditions suivantes :

1° Précipitation totale de matières protéiques du lait : en d'autres termes, le filtrat doit donner une réaction négative au Biuret.

2° Le précipité doit avoir un taux de minéralisation à peu près constant, pour nous faire éviter la calcination du précipité, constituant une grande perte de temps.

3° La durée du dosage ne doit pas être prolongée.

C'est en se plaçant à ce point de vue que nous allons analyser maintenant la valeur de chacune des méthodes proposées.

1. Méthode de Roux

Détermination des matières protéiques totales

Principe. — Cette méthode repose sur le principe que l'acide trichloroacétique précipite les protides restés dissous dans le liquide sous-jacent à la couche butyreuse, dans le dosage de la matière grasse par le procédé d'Adam Meillère.

Technique. — On recueille dans un verre le liquide opalescent séparé de la couche éthéro-alcool-butyreuse.

On ajoute 5 cm³ d'acide trichloroacétique à 50 %, on agite délicatement pour bien répartir le réactif ; les matières protéiques se précipitent en flocons. On filtre sur un petit filtre séché et taré au préalable, placé sur un entonnoir. Quand le liquide du filtre et les protides en suspension ont été complètement versés sur le filtre, avec l'extrémité d'un agitateur munie d'une rondelle de caoutchouc et un peu de liquide filtré, on détache le peu de précipité qui adhère aux parois du verre et on jette le tout sur le filtre. On lave les albuminoïdes avec 50 cm³ d'eau distillée, additionnée de 1 cm³ d'acide trichloroacétique à 50 %. Le lavage terminé, on essore le filtre et on le passe à l'étuve à 110°, jusqu'à poids constant.

L'augmentation du poids du filtre donne la quantité des matières protéiques contenues dans 10 cm³ de lait ; en multipliant par 100, on ramène les résultats au litre.

Critique. — Nous avons constaté toujours dans le filtrat obtenu par cette méthode une réaction violette au Biuret : le filtrat se trouble également par l'acide silicotungstique, ce qui nous prouve qu'une partie de matières albuminoïdes échappent à la précipitation par l'acide trichloroacétique.

La valeur azotée du filtrat est en moyenne aux environs de 0 gr. 410 par litre.

Parfois même, nous avons obtenu des chiffres beaucoup plus forts.

Les cendres des matières protéiques (taux de minéralisation) sont faibles et ne varient qu'entre 0 gr. 400 et 0 gr. 800.

Outre ces causes d'inexactitude, cette méthode pré-

sente encore l'inconvénient d'exiger une surveillance continue surtout pendant les lavages du précipité.

Cette méthode nous a donné toujours des résultats très faibles, s'écartant de ceux de Dénigès de 2 grammes dans la grande majorité des cas.

2. Méthode Patein-Déval

Dosage des matières protéiques totales du lait

Comme dans la méthode précédente, on part du résidu du dosage de la matière grasse par la méthode d'Adam Meillère. On reprend le liquide opalescent et on le complète à 50 cm³ avec de l'eau distillée. On ajoute de l'acide acétique à 15 %, en agitant continuellement jusqu'à ce que le trouble produit par l'addition de l'acide soit persistant et n'augmente plus. On verse encore quelques gouttes d'acide acétique en excès: la réaction doit être nettement acide au tournesol.

On verse 30 cm³ d'alcool à 90° et on complète le volume à 100 cm³ avec de l'eau distillée; on agite un peu et on laisse reposer.

Après 12 heures de repos, on filtre sur un filtre taré et sans plis. On lave avec de l'eau alcoolisée au titre de 50°; on essore le filtre et on dessèche à l'étuve à 100°.

PIETTRE a proposé une certaine modification de ce procédé, afin de diminuer sa durée. Il opère de la façon suivante: le liquide obtenu après la séparation des matières grasses par la méthode d'Adam Meillère, est addi-

tionné d'eau distillée, comme il est dit plus haut, jusqu'à 50 cm³. On porte alors au bain-marie jusqu'à ce que l'éther, l'alcool et l'ammoniaque aient été complètement chassés.

Ceci fait, on étend avec de l'eau distillée à 99 cm³ à la température de 15°, on porte au bain-marie en couvrant pour réduire le plus possible les pertes par évaporation, puis on ajoute goutte à goutte 1 cm³ d'acide acétique à 15 %.

Dans ces conditions, on doit obtenir, selon l'auteur, un précipité qui se dépose en moins d'une heure. On lave le précipité qui est séché à 105° et pesé à poids constant.

L'ensemble des opérations (moins la dessiccation du filtrat) ne doit dépasser trois ou quatre heures.

Critique. — L'acide acétique ne précipite pas la totalité des matières protéiques du lait.

Le filtrat se trouble par l'acide silicotungstique et donne une réaction violette au Biuret. Sa teneur en azote est aux environs de 0 gr. 320 par litre.

La minéralisation des matières protéiques est faible: elle est comprise entre 300 et 700 milligrammes.

Dans maints cas, nous avons observé la redissolution partielle du précipité.

Utilisant cette méthode, nous obtenions toujours des chiffres plus faibles que par la méthode de Dénigès.

La différence entre ces deux méthodes est à peu près d'un gramme et demi par litre.

3. Procédé de Trillat et Sauton

Dosage des matières protéiques totales du lait

Principe. — L'aldéhyde formique insolubilise les matières albuminoïdes du lait.

Technique. — On additionne 5 cm³ de lait de 25 cm³ d'eau distillée et l'on porte à l'ébullition. On ajoute 5 gouttes de formol commercial et on fait bouillir pendant deux ou trois minutes; au liquide légèrement refroidi, on ajoute 5 cm³ d'acide acétique à 1 %; après 5 à 10 minutes de repos, on filtre sur un filtre taré, on lave à l'eau distillée jusqu'à disparition de l'acidité. On extrait la matière grasse au Soxhlet en utilisant l'acétone; on sèche le précipité à l'étuve à 75°-80°.

Critique. — Cette méthode présente deux inconvénients, à savoir: 1° le formol utilisé pour la précipitation des matières protéiques se combine avec ces dernières, ce qui donne une erreur non négligeable; 2° d'autre part, la méthode de Trillat et Sauton nécessite l'emploi de l'appareil Soxhlet qui est délicat à manier et peut donner lieu à des inflammations. Et c'est pourquoi cette méthode ne peut pas entrer dans la pratique courante.

4. Méthode de Bordas et Touplain

Détermination des matières protéiques du lait

Réactif précipitant: Alcool acétique à 65° à 1 0/00 d'acide acétique.

PICHON-VENDEUIL, étudiant ce réactif, a constaté que le filtrat contient encore des matières protéiques. Il a tenté de les éliminer en augmentant la proportion de l'acide acétique à 10 %. Il estime que, par ce procédé, on arrive à précipiter la totalité des matières protéiques du lait.

Si nous analysons de plus près les chiffres qu'il obtient pour la valeur azotée du filtrat, à savoir 0 gr. 256 comme moyenne, passant par un minimum de 0 gr. 238 et un maximum de 0 gr. 280, nous remarquons tout de suite que ce chiffre est beaucoup plus élevé que celui de l'azote amidé.

L'erreur théorique de ce procédé est facile à calculer. Dans le lait de vache, il y a environ 0 gr. 170 d'azote non protéique. Alors $(0 \text{ gr. } 280 - 0 \text{ gr. } 170) \times 6,557$ nous donne la grandeur de l'erreur théorique, à savoir 0 gr. 721 par litre.

Du point de vue théorique, cette erreur n'est nullement à négliger. Il est évident que dans la pratique elle peut être encore augmentée à cause de la minéralisation des matières protéiques.

Réactif silicotungstique

L'acide silicotungstique est un excellent déféquant des matières albuminoïdes du lait. Il est utilisé par M. le Professeur BOUIN pour le dosage du lactose par voie polarimétrique, et il donne des résultats tout à fait satisfaisants.

Ce réactif, que nous avons songé à utiliser pour établir une méthode gravimétrique pour la détermination

des matières albuminoïdes du lait, et dont l'étude nous a occupé pendant quelques mois, ne peut être employé seul pour cette opération.

Nous avons toujours trouvé dans le précipité obtenu par le réactif silicotungstique une très forte proportion de cendres. Le taux de minéralisation du précipité variait entre $1/5$ jusqu'à $1/3$, étant donné qu'il se forme des composés insolubles surtout en combinaison avec la chaux. Il nous a paru probable qu'on pourra établir une formule de correction pour obtenir des résultats en matières protéiques déminéralisées. D'autre part, dans l'établissement de la formule de correction, on devrait tenir compte que, dans cette méthode de précipitation à peu près 25 % d'acides aminés sont adsorbés par le filtrat précipité.

Nous croyions aussi pendant un certain temps qu'il serait possible de déduire, d'après la quantité de cendres dans le précipité, le pourcentage des matières albuminoïdes du lait. Après avoir fait un grand nombre d'expériences, dont une certaine partie est citée dans le présent travail, nous avons constaté qu'il n'y a aucun rapport constant entre la proportion des cendres dans notre précipité et la proportion des matières protéiques dans le lait.

Remarquons que les filtrats obtenus par le réactif silicotungstique nous donnaient toujours une réaction négative au Biuret et leur richesse moyenne en azote ne dépassait que très rarement 0 gr. 06 par litre.

(Les chiffres qui sont donnés dans les tableaux représentant la valeur des matières protéiques déminéralisées.)

Précipitation par l'acide chlorhydrique et le réactif silicotungstique

Méthode de l'auteur

Il résulte de notre étude du réactif silicotungstique que dans le choix d'agent précipitant il ne faut pas seulement s'attacher à la force précipitante, mais aussi prendre en considération la question de la minéralisation du précipité. En un mot, il faut savoir réunir les deux conditions : d'une part, maximum de précipitation des matières protéiques, et de l'autre, taux constant de la minéralisation de la caséine.

Guidé par cette idée, nous sommes parvenu à établir un mode opératoire qui nous a donné pleine satisfaction. Nous avons recours à deux réactifs : l'acide chlorhydrique à 20 % et le réactif silicotungstique à 2 %. Le premier nous sert à précipiter surtout la caséine : il donne lieu à la formation du chlorure de calcium parfaitement soluble. Le rôle du deuxième consiste à précipiter les matières albuminoïdes qui ont échappé à l'action de l'acide chlorhydrique. Etant donné qu'au moment où nous l'utilisons, la chaux est combinée au chlore, son emploi ne présente plus pour nous le danger de voir notre précipité fortement minéralisé.

Préparation du réactif silicotungstique (BOUIN). — 10 grammes d'acide silicotungstique sont dissous dans un peu d'eau. On ajoute 25 cm³ d'acide acétique concentré et on complète à 500 cm³ avec de l'eau distillée. Sans

l'acide acétique, on obtient une précipitation moins nette et formation d'une bouillie.

Technique. — Nous partons du résidu du dosage de la matière grasse par la méthode d'Adam Meillère. Le liquide opalescent, recueilli dans un verre, est étendu de 30-40 cm³ d'eau distillée, et additionné d'acide chlorhydrique à 20 % jusqu'au moment où le trouble provoqué par le réactif n'augmente plus.

Nous laissons le liquide au repos pendant une heure et demie; puis nous le jetons sur un filtre taré au préalable. Le verre est soigneusement lavé avec de l'eau distillée et les eaux de lavage sont réunies sur le filtre.

Le filtrat qu'on obtient pendant cette première filtration est tout à fait clair, mais il contient encore des matières protéiques. Il se trouble par le réactif silicotungstique et donne une réaction violette du Biuret.

Le filtrat est additionné au cours même de la filtration de 1 cm³ 5 à 2 cm³ de réactif silicotungstique, qui achève la précipitation des matières protéiques.

Quand il n'y a plus de liquide sur le filtre, nous versons encore une fois sur le même filtre le filtrat acidulé par le réactif silicotungstique.

Dans ces conditions, le réactif silicotungstique remplissant bien son rôle de meilleur précipitant des matières albuminoïdes du lait, ne contribue plus à une forte minéralisation de la caséine.

Une fois la filtration finie, nous lavons le précipité avec 25-30 cm³ d'eau distillée par affusions successives, et après avoir essoré le filtre, nous le portons avec son

contenu à l'étuve à 100°. Nous l'y desséchons jusqu'au poids constant, environ 5-6 heures.

Nous devons remarquer que notre filtrat final est tout à fait exempt de matières protéiques : la réaction du Biuret est négative et il ne se trouble plus par le réactif silicotungstique. Sa richesse en azote est en moyenne 0 gr. 065 par litre. Le taux de minéralisation des matières protéiques est presque constant et varie entre 1 gr. 100 et 1 gr. 500 par litre.

Pour obtenir les résultats en matières protéiques déminéralisées, nous retranchons 1 gr. 700 du chiffre obtenu par pesées du précipité, 1 gr. 300 représentant ses cendres et 0 gr. 400 les acides aminés absorbés, le tout rapporté au litre.

Ce mode d'opérer nous a donné des résultats satisfaisants et, en se basant sur les expériences que nous avons faites, nous le trouvons exact.

D'autre part, elle se caractérise par sa simplicité et ne demande guère que 3-4 heures pour l'exécuter (non compris le temps du dessèchement).

METHODE COLORIMETRIQUE

Principe. — Cette méthode est basée sur l'action de l'acide nitrique sur les protides. Si l'on fait bouillir ces substances additionnées de cet acide, elles prennent une coloration jaune clair qui passe par l'alcalinisation à la soude au jaune foncé. Cette réaction, connue sous le nom de xantoprotéique, fait partie des réactions colorées des

protides. INOYE attribuait la coloration orange à la nitration des acides oxyaromatiques qui résultent de l'hydrolyse des protides. D'après lui, l'élément qui influe le plus, c'est la tyrosine. SALKOWSKI et ABDERHAEDEN attribuent aussi un tryptophane la production de cette coloration.

Préparation de l'étalon. — L'auteur adopte le mélange de Th. MÖRNER. Cet étalon contient: 18,6 d'une solution décimale de bichromate de potasse, 2 cm³ 7 d'une solution centimale de permanganate de potasse, le tout est additionné d'eau distillée jusqu'au volume de 100 cm³. Cette solution n'est pas parfaitement stable.

L'auteur recommande de préparer l'étalon au moment du dosage.

Technique du dosage. — On introduit dans une éprouvette de verre d'Iéna de dimensions 200 × 23 millimètres, 1 cm³ de lait, 6-7 cm³ d'acide nitrique concentré de densité 1,39-1,40; on ferme l'éprouvette avec un bouchon en caoutchouc muni d'un réfrigérant ascendant à air d'un mètre de longueur. Ayant fixé le tout, incliné à un support, on fait bouillir pendant deux minutes exactement; on refroidit, on transvase le liquide dans un matras jaugé de 50 cm³ ou de 100 cm³. On neutralise dans le ballon même avec une solution de soude concentrée à 40 %, en ajoutant un léger excès. On complète jusqu'au trait et, après agitation, on filtre sur amiante. La vitesse de filtration doit être de 40-50 cm³ en 5 minutes. Le liquide, qui doit être limpide, est porté rapidement dans la cuve du colorimètre et comparé à la solution d'étalon.

Nous citerons, à titre d'exemple, quelques résultats obtenus par l'auteur :

	<i>Méthode Dénigès</i>	<i>Méthode de l'auteur</i>
Lait de vache	28 gr.	28 gr. 50
	30 gr. 75	31 gr.
	32 gr.	32 gr.
	40 gr.	41 gr.
Lait de bufflesse . .	38 gr.	39 gr.
	40 gr. 50	41 gr.
	42 gr.	42 gr.
	45 gr.	46 gr.
	35 gr.	41 gr.
	34 gr.	41 gr.

Critique. — Il résulte de ces chiffres que la concordance entre la méthode de Dénigès et celle de l'auteur n'est pas toujours réalisée. Nous voyons parfois des écarts de 7 grammes entre ces deux méthodes.

D'ailleurs, quelques causes d'erreur propres à la méthode elle-même réduisent de beaucoup ses grands avantages, à savoir la rapidité et la simplicité.

Tout d'abord, comme l'indique l'auteur lui-même, on trouve dans le lait des protéines autres que la caséine, qui peuvent donner une réaction xantoprotéique différente comme intensité de celle de caséine. Cette circonstance élimine *a priori* cette méthode de l'emploi pour des laits dont le pourcentage en albumine sera élevé, par exemple pour le lait colostré.

D'autre part, le lactose peut donner lors de la neutralisation une coloration jaune-brunâtre, pouvant modi-

fier celle produite par la réaction xantoprotéique. Pour obvier à cet inconvénient, l'auteur recommande d'avoir soin de bien refroidir le liquide pendant la neutralisation avec la soude et de ne pas dépasser 30° C.

METHODE DE DOSAGE PAR CHUTE DE CONDUCTIBILITE

Méthode de Strohecker

Principe. — Dans le lait, la caséine est sous forme de caséinate de calcium, sel d'un acide faible et d'une base forte.

L'addition d'acide chlorhydrique dilué correspondant à la réaction caséinate de calcium + HCL = caséine + chlorure de calcium produit une chute de conductibilité due à la faible dissociation de la caséine.

Technique. — On ajoute à 25 cm³ de lait, une fois 25 cm³ d'eau distillée; puis, ensuite, 12 cm³ 5 d'eau et 12 cm³ 5 de HCL. On détermine les conductibilités L_1 et L_2 de ces deux solutions. On détermine la conductibilité de la solution diluée de HCL, L_3 .

La chute de conductibilité provoquée par le lait est:
$$L = L_1 + L_3 - L_2.$$

Une table dressée par l'auteur donne directement en azote la richesse correspondante à une conductibilité donnée.

Les résultats concordent avec ceux obtenus par la méthode de Kjeldahl.

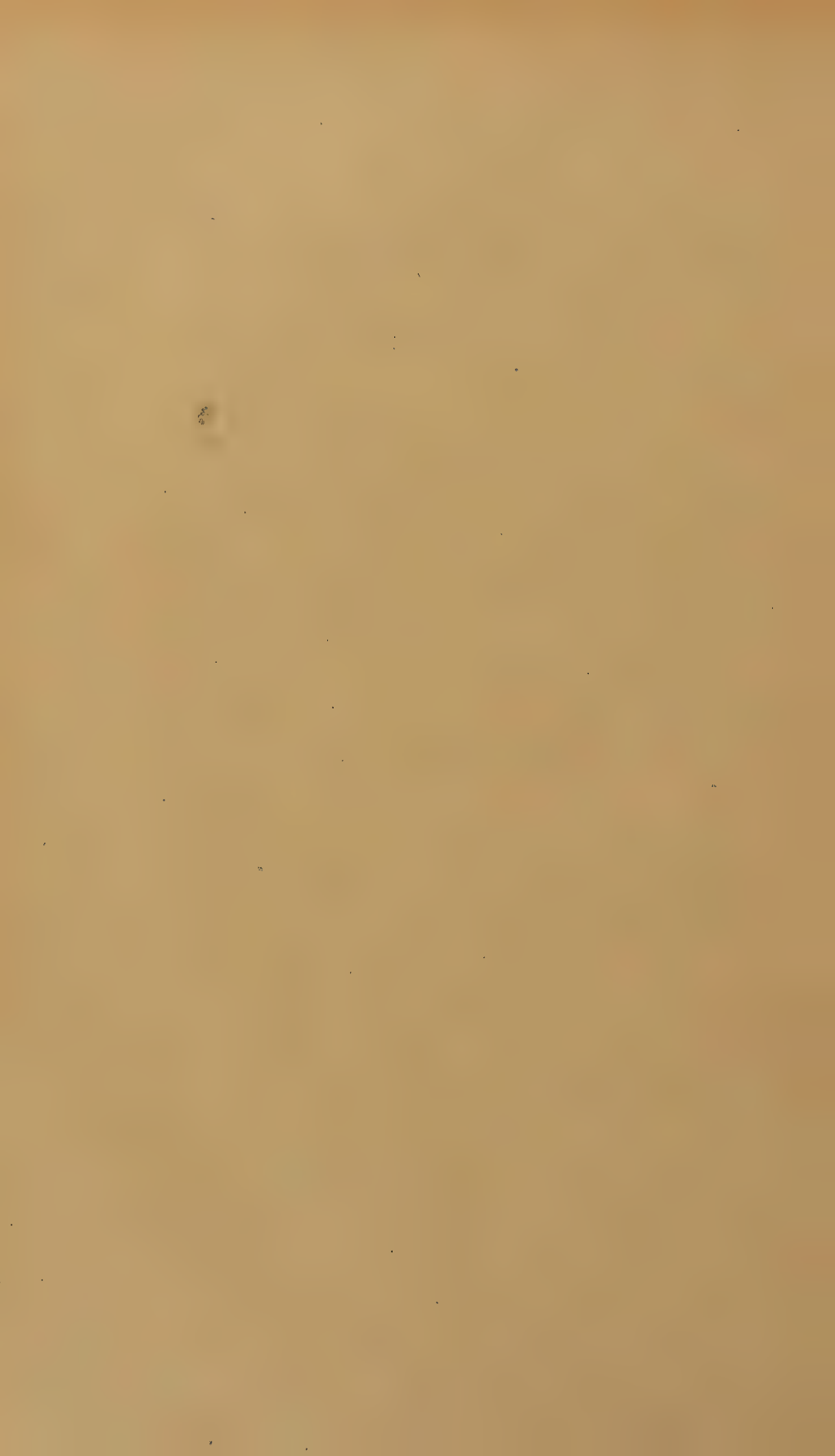
Critique. — Cette méthode présente comme avantage la simplicité et la rapidité. Néanmoins, elle aura de graves inconvénients, à savoir :

1° La conductibilité électrique du lait n'est pas une constante : elle connaît des écarts dans des limites étendues.

2° Elle ne peut pas s'appliquer aux laits fraudés par l'addition d'eau, qui n'est jamais exempte d'électrolytes, modifiant profondément la conductibilité électrique.

3° Elle sera influencée par la fermentation lactique. L'acide lactique dissout une petite quantité de phosphate tricalcique, lequel augmente la concentration électrolytique du lait et augmente ainsi sa conductibilité.

4° L'addition des agents de conservation faussera les résultats.



CONCLUSIONS

Il découle de notre étude que, pour le moment, ne connaissant pas exactement les albuminoïdes du lait, nous n'avons pas encore entre nos mains une méthode sûre et exacte de leur dosage. Et disons encore que cet état des choses est assez naturel; pour doser exactement un élément donné, nous devons prévoir comment il va se comporter vis-à-vis d'un réactif avec lequel nous opérons. Mais pour prévoir, il faut connaître à fond les choses. Et nous ne sommes nullement dans le cas. D'ailleurs, nous travaillons avec du matériel très complexe, à savoir le lait.

De là une simple conclusion. Pour arriver à établir des méthodes exactes du dosage des matières albuminoïdes du lait, une condition *sine qua non*, c'est l'étude approfondie des divers éléments du lait et de leur mode de liaison. Et nous pouvons dire qu'on n'y est pas encore arrivé. De toutes les méthodes volumétriques que nous connaissons, il nous semble que c'est la méthode de Dénigès qui offre le plus de garantie. Sa base théorique, au premier coup d'œil, n'est pas peut-être très stable, mais elle se vérifie dans la pratique. Et la pratique, l'expérience, c'est en premier et dernier lieu le suprême juge de toutes les théories. Nous en avons invoqué les qualités et les défauts dans la partie analytique de ce tra-

vail : il résulte de ces critiques que, dans la pratique industrielle, quand on n'a pas besoin d'une exactitude scientifique, cette méthode peut rendre d'énormes services.

La méthode de Kjeldahl et toutes les autres méthodes qui reposent sur le même principe, ne sont nullement infaillibles ; par contre, comme nous l'avons démontré, M^{re} WEISSMANN et moi, elle donnera toujours des chiffres trop forts qui ne seront qu'une approximation plus ou moins éloignée de la vérité. Nous croyons qu'il est peut-être possible d'éviter l'entraînement de la soude avec de l'ammoniaque ; il est fort probable que, par des mesures appropriées, on pourrait obvier à cet inconvénient qui disqualifie cette méthode. Mais, pour le moment, on n'y est pas encore parvenu. Les méthodes gravimétriques, elles non plus, ne sont pas exactes. Parfois, cela provient de la forte minéralisation de la caséine, dont le taux n'est jamais constant : c'est le cas avec l'acide phosphorique, sulfurique, phosphotungstique, silicotungstique, etc. ; parfois, la cause est ailleurs, mais elle n'est nullement moindre ; c'est la non-précipitation totale des matières protéiques : c'est le cas avec l'acide trichloroacétique, l'alcool acétique, l'acide acétique, et de tant d'autres réactifs qui ont été proposés.

Comme il découle de notre étude, nous avons dans une certaine mesure éliminé ces causes d'erreur.

Mais, pour le moment, on peut faire une objection à toutes les méthodes gravimétriques utilisées pour le dosage des matières protéiques du lait, objection qui est la plus grave peut-être en chimie, à savoir qu'on dose quelque chose qu'on ne connaît pas bien, et que l'on con-

sidère assez schématiquement le précipité obtenu comme produit intégral des matières albuminoïdes du lait. Mais il est facile à deviner pourtant que chaque réactif ajouté trouble profondément les équilibres du lait qui ne sont pas, à l'heure actuelle, mesurables par les moyens dont nous disposons.

L'avenir appartient alors aux méthodes volumétriques, qui n'exigent que la réalisation d'une seule condition : connaître bien la composition élémentaire des matières protéiques du lait et pouvoir les doser en partant d'un seul élément déterminé.



Densité . . .	10316	10314	10324	10321	10318	10316	10326	10320	10321	10324
Acidité . . .	17°	17°2	17°5	16°5	17°2	17°4	17°	18°	17°6	17°
Mat. grasse	34	35	33	34,2	33,5	34	34	33,50	33	33
Extrait sec.	122,4	123,1	123,2	123,89	122,3	122,4	124,9	122,8	122,85	123,2
Extr. degr..	88,4	88,1	90,2	89,69	88,8	88,4	90,9	89,3	89,85	90,7
NaCL	1,72	1,76	1,80	1,78	1,76	1,74	1,82	1,76	1,74	1,76
Lactose . . .	47,75	48,25	49	48,5	48,75	48,25	48,75	48,25	48,25	48,75
Cendres . . .	7,6	7,6	7,3	7,4	7,5	7,5	7,4	7,5	7,6	7,5
C. B.	86,75	86,25	85,5	85,5	86,25	85,75	85,75	85,75	86,25	86,25
Dénigès . . .	33,50	30,75	33,50	32	32	32	33,50	33,50	32	33,50
Roux	31,227	29,212	31,374	30,347	30,937	29,409	30,772	31,222	31,843	32,237
Kjeldahl . .	34,6	32,3	34,4	33,2	32,6	33,3	34,1	34,5	32,2	34,50
R. S. T. . . .	33,248	30,883	33,187	31,325	32,254	31,735	32,828	32,328	33,524	33,328

Densité . . .	10317	10313	1032	10321	10317	10322	10324	10327	10320	10315
Acidité . . .	17°	17°5	17°2	17°	18°5	17°5	17°2	16°8	17°	17°5
Mat. grasse .	34	35	34	32	35	33,5	34	34	35	34,2
Extrait sec.	122,65	122,85	123,4	121,25	123,85	123,3	124,4	124,15	124,6	122,39
Extr. degr. .	88,65	87,85	89,4	89,25	88,85	89,8	90,4	90,15	89,6	88,19
NaCl	1,76	1,80	1,72	1,74	1,82	1,82	1,78	1,76	1,74	1,78
Lactose . . .	48,6	49	49,2	48,25	49	48,7	49	48,5	48,7	48,75
Cendres . . .	7,3	7,4	7,3	7,2	7,52	7,6	7,5	7,72	7,35	7,4
C. B.	85,1	86	85,7	84,25	86,60	86,7	86,5	87,10	85,45	85,75
Dénigès . . .	32	30,75	30,75	32	30,75	32	33,50	32	32	30,75
Roux	31,123	29,246	29,887	30,536	28,657	30,789	31,723	30,554	30,727	28,246
Kjeldahl . . .	32,9	31,7	32,8	32,8	31,7	33,2	34,1	33,2	32,9	33,1
R. S. T. . . .	32,343	30,720	31,008	31,827	31,127	31,843	32,850	32,223	31,773	31,664

Densité . . .	10321	10317	10315	10324	10319	10318	10317	10322	10326	10323
Acidité . . .	16°5	17°	17°4	16°8	17°6	17°	17°2	17°	17°2	17°
Mat. grasse	29	34	36	30,5	34,5	35,2	35,5	33,4	36	32
Extrait sec.	117,65	122,65	124,55	120,2	123,75	124,34	124,45	123,18	127,3	121,75
Extr. degr..	88,65	88,65	88,55	89,7	89,25	89,14	88,95	89,78	91,3	89,75
NaCl . . .	1,74	1,82	1,84	1,78	1,82	1,82	1,74	1,76	1,72	1,74
Cendres . . .	7,3	7,5	7,4	7,2	7,6	7,5	7,5	7,2	7,5	7,12
Lactose . . .	48,20	49,1	49,2	48,55	49,01	48,75	49,2	48,65	47,45	48,12
C. B.	84,7	86,6	86,2	84,55	87	86,25	86,7	84,65	84,95	83,72
Dénigès . . .	32	30,75	30,75	33,5	30,75	29,25	30,75	32	35	33,50
Patein-Dev..	30,724	28,714	29,328	31,278	30,842	28,430	29,514	30,678	33,643	32,113
Roux	30,212	29,502	29,114	30,943	30,724	28,012	29,104	30,423	33,027	31,914
R. S. T. . . .	31,354	29,840	30,344	32,407	31,543	28,714	30,502	32,141	34,512	33,328

Densité . . .	10315	10323	10318	10316	10315	10325	10323	10318	10317	10321
Acidité . . .	17°4	17°5	17°8	21°	17°3	17°4	17°2	17°	17°5	17°4
Mat. grasse.	35,2	37	33,8	35	35,2	34,7	35,2	34	33,8	35
Extrait sec.	123,49	127,75	122,66	123,6	123,59	125,4	125,59	122,9	122,41	124,85
Extr. degr..	88,29	30,75	88,66	88,6	88,39	90,7	90,39	88,9	88,61	83,85
NaCl. . . .	1,76	1,84	1,84	1,83	1,79	1,76	1,85	1,82	1,81	1,79
Lactose . . .	47,85	4,82	49,3	47,25	48,15	49	49,1	48,25	48,73	49,24
Cendres . . .	7,6	7,5	7,2	7,25	7,3	7,3	7,1	7,4	7,24	7,22
C. B.	85,85	85,7	85,3	84,75	84,65	85,5	84,6	85,25	84,93	85,10
Dénigés . . .	35,5	32	30,75	33,5	32	33,5	33,5	32	32	32
Patein-Dev..	31,834	31,212	29,173	31,218	30,734	32,425	32,724	31,107	30,427	30,842
R. S. T. . . .	33,017	32,104	30,743	33,227	31,546	33,419	33,212	31,594	31,812	31,777
Roux	31,375	31,209	28,947	31,037	30,378	32,202	32,008	29,743	30,796	30,228

	10314	10324	10317	10324	10316	10315	10318	10322	10319	10317
Densité . . .										
Acidité . . .	18°	17°3	17°8	18°2	16 4	17°2	17°	17°3	17°1	17°2
Mat. grasse	34	35	33,5	34,4	35	36	33	34	33,5	34,5
Extrait sec.	121,9	125,6	122,05	125,63	123,6	124,55	121,7	123,9	122,55	123,25
Extr. degr..	87,9	90,6	88,45	91,23	88,6	88,5	88,7	89,9	89,05	88,75
NaCL	1,82	1,86	1,79	1,84	1,82	1,76	1,75	1,84	1,90	1,82
Lactose . . .	48,3	47,85	47,43	48,75	48,25	49,2	48,25	49,1	48,75	48,12
Cendres . . .	7,5	7,6	7,4	7,35	7,42	7,27	7,45	7,13	7,24	7,4
C. B.	85,8	85,85	84,43	85,50	85,35	85,45	85,50	84,75	85,10	85,12
Dénigès . . .	30,75	33,50	32	33,50	33,50	30,75	32	32	32	32
Patein-Dev..	28,343	31,279	31,111	31,392	32,438	28,842	30,327	29,724	30,746	30,378
R. S. T. . . .	30,243	33,354	32,220	32,934	33,335	30,002	31,398	31,423	32,217	31,754
Roux	28,224	31,217	31,073	31,227	32,189	28,321	30,147	30,228	30,527	30,217

Densité . . .	10324	10319	10317	10315	10319	10321	10318	10322	10321
Acidité	16°5	17°2	17°4	17°	17°	17°4	19°2	17°2	17°
Mat. grasse	31	34,5	35,2	35,6	34,5	34,8	35,4	33	32,5
Extrait sec.	120,8	123,75	124,09	124,07	124,25	124,6	124,58	122,7	121,85
Extr. degr.	89,8	89,25	88,79	88,47	89,75	89,81	89,48	89,7	89,35
NaCL	1,74	1,84	1,82	1,84	1,82	1,78	1,82	1,78	1,80
Cendres . . .	7,2	7,5	7,4	7,3	7,5	7,3	7,4	7,3	7,3
Lactose . . .	48,54	48,72	49,1	49,2	48,75	47,56	49,24	48,52	48,12
C. B.	84,54	86,22	86,1	85,7	86,25	81,06	86,24	85,2	84,62
Dénigés . .	33,56	29,25	28	30,75	33,5	33,5	32	32	33,50
Patein-Dev.	32,273	27,613	27,004	29,123	31,324	31,703	30,324	30,612	31,212
Roux	32,312	27,348	26,213	28,731	30,812	31,528	30,117	30,328	30,803
R. S. T. . . .	33,478	28,433	28,340	30,391	32,205	32,437	31,603	31,527	32,142

Densité . . .	10324	10321	10323	10319	10325	10322	10328	10323	10317	10318
Acidité . . .	16°8	18°2	17°6	17°	16°5	17°4	17°2	17°5	17°4	18°5
Mat. grasse	32,2	33,5	34	35,2	33	32,8	32,8	32	35,2	35,6
Extrait sec.	123,44	123,05	124,15	124,54	123,45	122,46	123,96	121,75	124,09	124,82
Extr. degr..	90,24	89,55	90,15	89,34	90,45	89,66	91,1	89,1	88,89	89,22
NaCl	1,74	1,78	1,76	1,82	1,78	1,78	1,76	1,72	1,80	4,82
Cendres . . .	7,3	7,4	7,52	7,6	7,2	7,3	7,21	7,24	7,58	7,62
Lactose . . .	47,85	47,60	47,40	47,75	47,85	48,20	48,60	48,44	47,22	47,12
C. B.	84,35	84,60	83	85,7	83,85	84,7	84,65	85,64	85,12	85,22
HCL + RST.	33,142	33,274	34,748	32,832	34,424	33,083	33,147	32,915	32,412	33,204
Dénigés . . .	33,50	33,50	35	33,5	35	33,50	33,5	33,5	32	32

	10319	10324	10320	10318	10326	10317	10322	10321	10324	10317
Densité . . .	10319	10324	10320	10318	10326	10317	10322	10321	10324	10317
Acidité . . .	17°	18°2	17°3	17°4	17°2	16°8	17°	17°4	17°2	16°6
Mat. grassé	36	33	34,2	35,4	34	35	34,4	34	33,2	35,2
Extrait sec.	125,55	123,2	123,64	123,58	124,9	123,85	124,38	123,65	123,49	124,09
Extr. degr. .	89,55	90,2	89,44	88,18	90,9	88,85	89,98	89,65	90,29	88,89
NaCL	1,80	1,76	1,78	1,82	1,74	1,84	1,78	1,76	1,72	1,84
Cendres . . .	7,4	7,43	7,2	7,6	7,3	7,52	7,21	7,34	7,23	7,71
Lactose . . .	48,25	47,85	48,75	48,12	48,75	47,25	49,25	48,43	48,56	47,25
C. B.	85,25	85	84,75	86,12	85,25	84,85	85,30	85,13	84,71	85,8
Dénigés . . .	32	35	32	32	35	33,50	33,50	32	33,50	33,60
HCL + RST.	32,324	34,218	31,817	31,643	34,210	31,934	32,484	32,243	33,207	32,903

	10319	10322	10324	10317	10326	10318	10319	10323	10324	10321
Densité . . .	10319	10322	10324	10317	10326	10318	10319	10323	10324	10321
Acidité . . .	16°2	16°4	16°8	16°4	17°2	17°8	17°4	18°2	17°2	17°4
Mat. grasse	35,1	33,8	32,7	33,9	33	35	35,4	34,2	33,6	33,8
Extrait sec.	124,47	123,66	122,84	122,53	123,7	124,1	124,83	124,39	123,92	123,41
Extr. degr..	89,37	89,86	30,14	88,63	91,1	89,1	89,43	90,19	90,32	89,61
NaCL . . .	1,82	1,80	1,78	1,84	1,76	1,82	1,82	1,78	1,74	1,78
Cendres . . .	7,7	7,4	7,3	7,35	7,24	7,54	7,62	7,3	7,3	7,55
Lactose . . .	46,52	48,2	47,62	48,20	48,75	47,62	47,2	48,12	48,75	47,75
C. B.	85,02	85,2	84,12	84,95	84,95	85,32	85,3	84,62	85,25	85,50
HCL + RST.	33,827	33,071	34,103	31,730	33,407	32,948	33,212	33,103	33,345	33,261
Dénigès . . .	35	33,50	35	32	33,50	33,50	33,5	33,50	33,50	33,50

Densité . . .	10323	10321	10321	10318	10324	10321	10316	10322	10317
Acidité . . .	17°3	17°2	17°	17°8	17°4	17°6	17°2	18°6	17°2
Mat. grasse	33,8	34,2	34,6	35,4	34,6	34	36,2	33,7	35,6
Extrait sec.	123,91	123,89	124,37	124,58	125,12	123,65	124,04	123,54	124,57
Extr. degr..	90,11	89,69	89,7	89,18	90,52	89,65	87,84	89,84	89,97
NaCL	1,78	1,78	1,80	1,84	1,74	1,78	1,82	1,78	1,82
Cendres . . .	7,25	7,31	7,18	7,46	7,23	7,22	7,55	7,34	7,56
Lactose . . .	48,75	48,75	49,2	48,22	48,43	49	47,25	48,34	48,20
C. B.	85	85,30	85,1	85,55	84,58	85,10	85	85,04	86
Dénigés . . .	33,50	32	32	33,50	33,50	32	32	33,5	32
HCL + RST.	32,234	31,872	32,124	32,324	33,347	32,007	31,712	33,011	31,742

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ABDERHALDEN et SCHITTENHELM. — Vergleichung der Zusammensetzung des Kaseïnes aus Frauen-, Kuh- und Ziegenmilch. — *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1906.
- ANNALES DE BRASSERIE ET DISTILLERIE, 2^e année, page 51. —
Sur un nouvel accélérateur de la destruction de la matière organique dans le dosage de l'azote par la méthode Kjeldahl.
- ARTHUS. — Un exemple de l'activité spécifique de la muqueuse gastrique du pouvoir labogénique du lait.
- BARY (Paul). — Où en est la chimie colloïdale. — *G. W.*, Paris, 1927.
- BAUER et ENGEL. — Ueber die chemische und biologische Differenzierung der drei Eiweisskörper in der Kuh- und Frauenmilch.
- BEAU. — Sur la théorie de la polymérisation de la caséine. — *Lait*, n° 123, 1933.
- BEAU. — Les matières albuminoïdes du lait. — *Lait*, n° 1, 1921.
- BEAU et BOURGAIN. — La science fromagère. — *Baillière et Fils*, Paris, 1926.
- BIOURGE (Ph.). — Les substances albuminoïdes du lait de vache. Analyse critique du mémoire de Gustave Simon. — *R. G. L.*, vol. I, 1901-1902.
- BRIGANDO. — Recherches sur la caséine. — *Lait*, 1933.
- BOSWORTH. — Les caséines du lait de femme et du lait de vache dans l'alimentation infantile. — *American Journal of Diseases of Childreen of Chicago*, vol. 22, 1921.

- BONIN (M.). — A propos du dosage du lactose dans le lait. — *R. G. L.*, 1910.
- BONTAIRE. — Les colloïdes et l'état colloïdal. — *Alcan*, 1931.
- BURR et BERBERICH. — Bestimmung des Kaseingehaltes der Milch durch Filtration nach dem Verfahren von Mathaïopolus. *Molkerei-Zeitung*, Hildesheim XXIII, 1900.
- CERF. — Etude comparative des principales constantes utilisées pour la détermination du mouillage du lait. — *Thèse*, Nancy, 1932.
- CHERBULIEZ et SCHNEIDER. — La caséine n'est pas un corps homogène. Etude de son fractionnement par le chlorure d'ammonium. — *Lait*, n° 123, 1933.
- CHRISTIEN et VIRASORO. — La loi d'action de la présure dans la coagulation du complexe caséinate de calcium + phosphate de calcium. — *Lait*, n° 119.
- COMPTE RENDU de l'Inst. lactocogique de l'Ecole Polytechnique à Prague. — La nutrition insuffisante des vaches et son influence sur la composition du lait. — Prague, 1920.
- COMPTE RENDU de la Soc. de Biol., n° 22, 1903.
- COSMOVICI. — L'action des ions H sur la coagulation du lait. — *Bull. Soc. Chimie Biologique*, 1925.
- GONKA, MURPHY, BREESE. — The isoelectric point of varians proteins. — *Th. Journ. Am. Ch. Soc.*, 1926.
- DERRIEN et FONTES. — Chimie biologique médicale. — *Baillière et Fils*, 1926.
- DUCLAUX (J.). — Les colloïdes. — *G. W.*, Paris, 1929.
- DUCLAUX (E.). — Le lait. Etudes chimiques et microbiologiques. — *Baillière et Fils*, Paris, 1878.
- DE TONI. — Ueber Kolloïdes Kalzium phosphate. — *Kolloïdes Zeitschrift*, 1921.
- DÉNIGÈS. — Précis de chimie analytique. — *Edit. Médicales*, Paris, 1930.

- FULD. — Ueber die Milchgerinnung durch Kal. — *Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie*, 1902.
- HUNNING et HERVIG. — Différenciation et dosage de la lactalbumine et de la caséine dans un mélange de ces deux substances.
- JANÈKS. — *Dispersoidologijas Pamati*. — Riga, 1925.
- KOZAI. — Nouvelles contributions à la connaissance de la coagulation spontanée du lait.
- KONNING. — Etudes biologiques et biochimiques sur le lait. — *R. G. L.*, n° 1.
- LEZÉ. — Note sur le caillage du lait. — *R. G. L.*, 1904.
- LINDERSTROM LANG. — Le fractionnement de la caséine. — *C. R. Zab. Carlsberg*, 1929.
- LINET. — Les matières albuminoïdes du lait. — *Lait*, n° 4, 1921.
- LINET. — Sur les matières albuminoïdes solubles du lait. — *R. G. L.*, n° 17, 1913.
- LINET. — Sur les caséines solubles du lait.
- LINET. — Minéralisation des caséines. — *Lait*, n° 5, 1923.
- LINET. — Estimation de la quantité de caséine précipitée par la présure.
- LINET et AMMAN. — Contribution à l'étude des matières albuminoïdes du lait.
- LŒB (J.). — Les protéines. — *Alcan*, Paris, 1924.
- LŒB (J.). — La théorie des phénomènes colloïdaux. — *Alcan*, Paris, 1924.
- LOWENHARDT. — Ueber die Gerinnung der Milch. — *Hoppe Seyler's Zeitschrift für phys. Chemie*, 1904.
- MEYER. — Sur la biochimie de la caséine. — *Biochem. Zeit.*, 1927.
- MEULEN. — Note sur le dosage de l'azote dans les composés organiques par la méthode d'hydrogénation. — *C. R. Frar. Chim. Pays-Bas*, 1930.

- MOIR. — Détermination des protéines du lait. — *Analyst LVI*, 1931.
- MOREL. — Précis de la technique chimique à l'usage des laboratoires médicaux. — *Doin et Fils*, Paris, 1909.
- NICHOLS, BAILLEY, HOLM et PEYSHER. — L'effet du chauffage préliminaire sur la dispersion du caséinate de calcium dans le lait écrémé. — *The Journal of Phys. Chemistry*, 1931.
- OPPENHEIMER. — Ueber die Zersetzung des Eiweiss beim Kochen. — *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 1901.
- PATEIN. — Dosage du lactose dans le lait. — *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1902.
- PERTNAFF. — La solubilité de la caséine dans les solutions de chaux. — *The Journ. of biol. chemie*, t. XXXIX.
- PICHON-VENDEUIL. — Contribution à l'étude des amino-acides du lait de vache. — *Thèse*, Paris, *Edit. Méd.*, 1921.
- POPP. — Die Stickstoffbestimmung in der Milch. — *Milch-wirtschaftliches Zentralblatt*, 1906.
- PORCHER. — Le lait au point de vue colloïdal. — *Le Lait*, Lyon, 1929.
- PORCHER et CHEVALLIER. — La répartition des substances et des éléments minéraux dans le lait. — *C. R. Ac. Sc.*, 1921.
- SCHUTZE. — Ueber ein biologisches Verfahren zur Differenzierung der eiweisstoffverschiedener Milcharten. — *Zeitschrift für Hygiene*, 1901.
- SCALA. — Sulla probabile costituzione della diastasi persanica. — *Stazioni sperimentale agrarie italiane*, 1903.
- STADEK. — La caséine et ses propriétés chimiques. — *Cesk. Lekárnictwa*, 1930.
- SOMMERFELD. — Besitzen die löslichen Eiweisskörner der Milch spezifische bakterische Eigenschaften? *Zentralblatt für Bakteriologie*, 1901.
- STEINGAGER. — Die Einwirkung der Formaldehyds auf die drei Eiweisskörper. — *Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz*, 1905.

- STORCH. — Beiträge zur Kenntnisse des Kaseinogens der Eselsmilch, Wien, 1902.
- STROHECKER. — Dosage des substances azotées du lait au moyen d'une chute de conductibilité. — *Z. Untersuch. Lebensm.*, 1931.
- TRILLAT et SAUTON. — Dosage de la matière albuminoïde du lait. — *C. R. Acad. des Sciences*, 1906.
- VLADESCO. — Sur la teneur en phosphore de la caséine. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1924.
- VLÈS. — Précis de chimie physique. — *Vigot*, Paris, 1929.
- WEISSMANN. — Contribution à l'étude de la réfractométrie du lait de vache. — *Thèse*, Nancy, 1933.
- WIEGNER. — Ueber die Abhängigkeit der Zusammensetzung der Kuhmilch von Dispersitätsgrade ihrer Einzelbestandteile. *Zeitschr. für Untersuchung* 1914.
- WILHELM. — Die Erzeugung von Kasein im Anschlusse an den milchwirtschaftlichen Betrieb. — *Milch-Zeitung*, 1903.
- VANANDEVELDE. — Sur la classification des protéines du lait. — *R. G. L.*, 1910.
- VANANDEVELDE. — Sur les formes que le phosphore et le calcium affectent dans la caséine du lait. — *R. G. L.*, 1912.

DEUXIÈME THÈSE

Sujets proposés par la Faculté :

- 1. Les maladies cryptogamiques de la betterave à sucre.**
- 2. Le carbonifère de Pologne.**

Vu et approuvé ;

Nancy, le 3 Juillet 1934.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES :

CORNUBERT.

Vu et permis d'imprimer :

Nancy, le 19 Mai 1934.

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE NANCY,

BRUNTZ,

Président du Conseil de l'Université

